

УДК 591

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ СВЯЗЬ ПОЧЕЧНОГО КРОВОТОКА С РАЗМЕРОМ И ПЛОТНОСТЬЮ КЛУБОЧКОВ В ПОСТНАТАЛЬНОМ РАЗВИТИИ КРЫС

© 2012 г. У. В. Шырапай^{1,2}, В. М. Беличенко¹, К. А. Шошенко¹, Р. И. Айзман²¹ Институт физиологии СО РАМН, Новосибирск, Россия.² Государственный педагогический университет, Новосибирск, Россия.

E-mail: shoshenko@physiol.ru

Поступила в редакцию 26.07.10 г.

Окончательный вариант получен 10.03.11 г.

Цель исследования – найти количественную взаимосвязь постнатальных изменений анатомической структуры клубочков и скорости кровотока в почках. Исследование проводилось на 4-, 12-, 30- и 65-суточных крысах Вистар. У них посмертно измеряли диаметры клубочка (Дкл, мкм), афферентной и эфферентной артериол (Даф и Дэф), плотность клубочков (N_{кл}, мм⁻³) и рассчитывали объем одного клубочка (V_{кл}, мкм³), всех клубочков (ΣV_{кл}, мм³/см³) и просветы афферентной и эфферентной артериол (Саф, Сэф, мкм²). Объемная скорость кровотока (ОСК) в почке, отнесенная к единице ее массы (Мп, мг), определялась лазер–Допплер флоуметром в перфузионных единицах (пф. ед.) у наркотизированных нембуталом крыс. Для оценки взаимосвязи названных параметров находили их аллометрическую зависимость.

В период постнатального роста морфологические параметры клубочков изменяются согласно уравнениям: $D_{кл} = 7.1 \cdot M_{п}^{0.41}$, $V_{кл} = 187 \cdot M_{п}^{1.23}$, $N_{кл} = 5309 \cdot M_{п}^{-0.63}$ (Мп одной почки), $S_{аф} = 1.1 \cdot V_{кл}^{0.35}$, $S_{эф} = 6.3 \cdot V_{кл}^{0.14}$. Почечная ОСК у 4-, 12- и 65-суточных крыс увеличивается согласно $ОСК = 6.7 \cdot (\Sigma V_{кл})^{0.98}$. ОСК, рассчитанная на единицу объема почечных клубочков, меняется с возрастом мало.

Ключевые слова: онтогенез, почка, клубочки, клубочковые артериолы, почечный кровоток, лазер–Допплер флоуметрия, крыса.

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия получено значительное количество данных о постнатальных изменениях структурных параметров почечных клубочков и динамике кровотока в почке. Обзор этих данных (Шырапай и др., 2008) показал, что в постнатальном онтогенезе диаметр клубочка (Дкл) увеличивается, плотность их (N_{кл}) в коре и, соответственно, в почке падает, а общее количество клубочков меняется мало, сохраняясь, например, у лабораторных крыс около 60000 в обеих почках. Согласно этому обзору, объемная скорость кровотока (ОСК), рассчитанная на единицу массы почки, с возрастом – растет, при этом растет и общий поток крови через почки растет по мере увеличения их массы (Мп).

Как следует из обзора, достаточной полноты этих знаний о структуре клубочков и скорости кровотока через них в постнатальном онтогенезе не было. Практически полностью отсутствовали сведения о возрастном изменении просвета клубочковых артериол и соотношении его с размером самого клубочка. Поэтому авторы обзора на крысах провели собственные исследования онтогенетических изменений структуры клубочков и ско-

рости кровотока в них. В настоящей работе дается количественная оценка взаимосвязи этих изменений, тем более что подобной работы еще не проводилось.

МЕТОДИКА

Методические подробности работы изложены ранее (Шырапай и др., 2008), и мы коротко дадим методическую характеристику ее. В опыте были 4-, 12-, 30- и 65-суточные крысы линии Вистар. Посмертная морфометрия проводилась на фиксированных в 5% формалине почках, сосуды которых после забоя животного через канюлю в брюшной аорте (у 4-суточных крыс в левом желудочке) заполнялись теплым водным раствором желатина (10%), окрашенного черной тушью при перфузионном давлении, соответствующем возрасту крыс. Измерения вели на микроскопах МБС-2 и МБИ-15 с увеличением до 14 мкм и 1.3 мкм, соответственно. Использовались срезы почки толщиной 40–150 мкм, приготовленные на замораживающем микротоме и помещенные в глицерин для увеличения их прозрачности.

Таблица 1. Параметры почечных клубочков у крыс разного возраста, по: (Шыырапай и др., 2008)

Возраст, масса тела	D клубочка, мкм (n_1)	Число клубочков/ мм ³		D артериол, мкм (n_3)	
		кора	почка (n_2)	аффер.	эффер.
4 сут, 10 г	33 ± 1.1 (37)	868 ± 85	447 ± 36 (17)	7.2 ± 0.4 (34)	5.8 ± 0.4 ^x (20)
12 сут, 20 г	43 ± 2.3* (19)	559 ± 71	312 ± 35* (14)	7.5 ± 0.4 (19)	5.9 ± 0.3 ^x (17)
30 сут, 53 г	71 ± 2.0* (41)	281 ± 30	191 ± 29* (19)	10 ± 0.2* (41)	6.7 ± 0.4** ^x (41)
65 сут 253 г	120 ± 1.1* (90)	53 ± 2.9	27 ± 1.7* (19)	13.4 ± 0.5** ^x (90)	7.5 ± 0.4** ^x (90)

Примечание. n_1, n_2, n_3 – количества измеренных клубочков, срезов, артериол. Приведено достоверное различие по сравнению с предыдущей возрастной группой крыс (*) и между афферентной и эфферентной артериолами (x) при $p \leq 0.05$.

Таблица 2. Почечный кровоток у крыс разного возраста, по: (Шыырапай и др., 2008)

Возраст, сутки (n)	Масса			Кровоток, пф.ед.
	тела, г	почек, мг	почек, %	
4 (16)	9 ± 0.3	94 ± 4	1.05 ± 0.03	22 ± 1.7
12 (14)	26 ± 1.4*	298 ± 16*	1.14 ± 0.04	31 ± 1.7*
30 (10)	71 ± 3.6*	689 ± 22*	0.99 ± 0.05*	55 ± 1.6*
65 (14)	176 ± 56*	1531 ± 48*	0.87 ± 0.03*	61 ± 2.2*

Примечание. Показано достоверное различие скоростей кровотока с группой более молодых крыс для $p \leq 0.05$.

Кровоток на поверхности правой почки измерялся у наркотизированных нембуталом животных (40–70 мг/кг массы тела), вводимым внутривенно. Во время опыта крысы находились в камере с температурой воздуха от 28° до 35° (у новорожденных) и влажностью, близкой к насыщению. Использовался лазер-Допплер флоуметр (ЛАКК-01, фирма “Лазма” Москва) и его базовый (кожный) датчик с внешним диаметром 3 мм. Прибор позволяет определить показатель микроциркуляции - произведение числа движущихся частиц (эритроцитов) на их скорость в определенном объеме ткани, и выражает полученные данные в перфузионных единицах (пф.ед.). Этот показатель микроциркуляции пропорционален ОСК в этом объеме ткани. Глубина проникновения лазерного луча в ткань – около 1 мм. Поэтому сравнительные исследования ОСК флоуметром корректно проводить там, где форма сосудистого русла существенно не меняется. Применительно к наружным корковым слоям почки разновозрастных крыс такое условие, в целом, выполняется.

Для анализа морфо-функциональных связей в растущей почке мы находили их аллометрическую (степенную) зависимость, которую широко применяют в онтогенетических исследованиях (Klingenberg, 1998; Tazawa et al., 2001; Беличенко и др., 2005). Она позволяет сопоставить скорости онтогенетических изменений структуры клубочков и кровотока в них. Построение аллометрических

уравнений и их графиков по средним значениям параметров для каждого возраста крысы (средняя арифметическая и ее ошибка), вычисления регрессионных коэффициентов a, b и квадрата коэффициента корреляции (r^2) проводили в пакете компьютерных программ Statgraphics 4.0 и Origin 6.1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Экспериментальные данные, которые будут использоваться в аллометрическом анализе, помещены в табл. 1 и 2. Они показывают, что по мере роста крысы средний Дкл увеличивается, их плотность $N_{кл}/мм^3$ коры и всей почки падает, а D клубочковых артериол, особенно, афферентных, растет.

Линия 1 на рис. 1 показывает, что возрастные изменения Дкл и Мп происходят с разной скоростью: Дкл увеличивается более медленнее, чем растет Мп (показатель степени $b = 0.41$). В период роста крыс от 4 сут до 65 сут Мп увеличилась в 16 раз, а Дкл – только в 3.5 раза. В тоже время объем клубочка ($V_{кл}$) растет существенно быстрее, чем Мп: $V_{кл} (мкм^3) = 187 \square Мп^{1.23}$.

Известный факт – снижение плотности клубочков (линия 2 на рис. 1) описывает уравнение с $b = -0.63$, которое также показывает, что снижение $N_{кл}$ происходит медленнее, чем растет масса почки. Так, в первый месяц жизни Мп увеличилась в

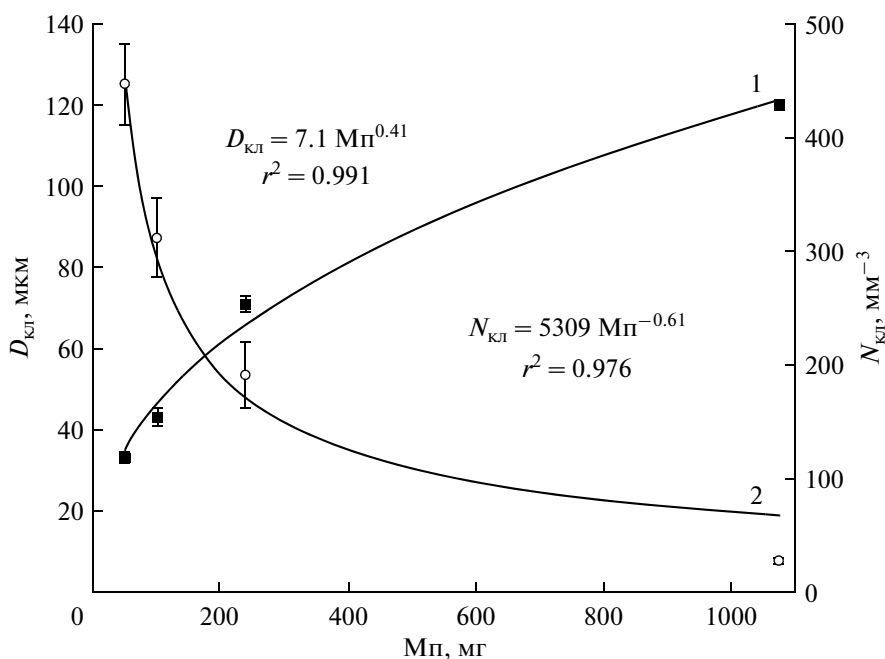


Рис. 1. Зависимость диаметра клубочков ($D_{\text{ккл}}$, линия 1) и их плотности в почке ($N_{\text{ккл}}$, линия 2) от массы одной почки ($M_{\text{п}}$) во время постнатального роста крыс. Масса почек вычислялась из их относительной массы согласно табл. 2. Оси координат представлены в логарифмическом масштабе.

5 раз, масса коры в 6 раз (Шыырапай и др., 2008), а $N_{\text{ккл}}$ снизилась в коре в 3.1 раза, а во всей почке в 2.3 раза. Это означает, что общее число клубочков в почке в период роста увеличивается. Есть данные, что у крыс такое увеличение происходит в первые недели жизни, а в последующем — оно не меняется (Nyengaard, 1993). Действительно, в период роста от 30 до 65 сут., когда $M_{\text{п}}$ увеличивается еще в 4 раза, $N_{\text{ккл}}$ падает в 7 раз. Заметим, что на рис. 1 опытная величина $N_{\text{ккл}}$ у 65-суточных крыс заметно меньше графической. Возможно, в более зрелом возрасте снижение плотности клубочков происходит быстрее.

Если объем одного клубочка растет быстрее, чем падает их плотность (сравните величины b для первого и второго параметров 1.23 и -0.63), то суммарный объем клубочков в 1 мм^3 почки ($\Sigma V_{\text{ккл}}$) должен повышаться. В первый месяц жизни это явление очевидно, рис. 2. Но концу второго месяца жизни этот рост уже не проявляется из-за резкого падения $N_{\text{ккл}}$, хотя средний объем одного клубочка продолжает увеличиваться.

В растущей почке $\Sigma V_{\text{ккл}}$ тесно связан с величиной ОСК. По данным на рис. 2 их связь для крыс в возрасте 4, 12 и 65 сут близка к пропорциональной, $b = -0.98$ (линия 1). У месячных крыс, по сравнению с 65-суточными, величина $\Sigma V_{\text{ккл}}$ оказалась высокой. Возможно, в первый месяц жизни рост клубочков опережает возрастное увеличение почечного кровотока, что и показывает линия 2

(рис. 2), отражающая возрастную динамику этих показателей в этот период.

На крысах показано, что с возрастом, по мере увеличения размера клубочка, протяженность в нем капиллярного русла растет (Nyengaard, 1993). По-видимому, это явление обусловлено, в основном, увеличением числа капилляров в клубочке. Оно должно приводить к расширению просвета капиллярного русла и увеличению в нем потока крови. Поэтому не случайно, с увеличением объема клубочка просвет артериол, входящих и покидающих его, растет, рис. 3. Однако он увеличивается значительно медленнее, чем объем клубочка (в 48 раз: $120^3/33^3$) и даже площадь его поперечного среза (в 13 раз: $120^2/33^2$). Аллометрический коэффициент b в приводимых на рис. 3 уравнениях (0.35 и 0.14) отражает эту онтогенетическую динамику, одновременно показывая, что просвет афферентной артериолы с возрастом расширяется заметно больше, чем просвет эфферентной артериолы.

Для оценки реальных скоростей кровотока в клубочке и в ее артериолах у разновозрастных крыс мы приняли, что у зрелых крыс почечный кровоток равен $4 \text{ мл}/(\text{мин см}^3 \text{ почки})$. Такую величину ОСК в почках (или близкую к ней) можно найти в обзорах (Corey, Spitzer, 1992; Lu et al., 1993; Шыырапай и др., 2008). В этом случае ОСК у 4-, 12- и 30-суточных крыс согласно табл. 2 должна равняться 1.4, 2.0 и $3.6 \text{ мл}/(\text{мин см}^3)$. Используя эти

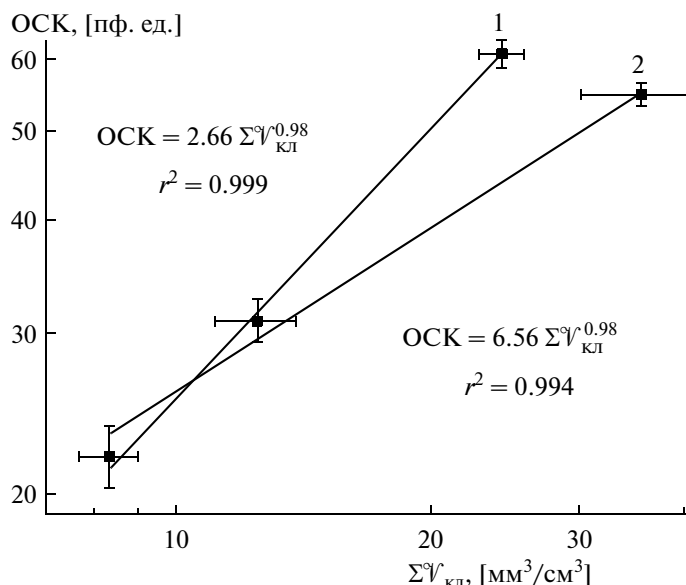


Рис. 2. Связь объемной скорости кровотока (ОСК) с суммарным объемом клубочков $\Sigma V_{\text{кл}}$ в почках крыс во время их постнатального роста. Линия 1 показывает эту связь для 4-, 12- и 65-суточных крыс, линия 2 - для 4-, 12- и 30-суточных крыс. Оси координат представлены в логарифмическом масштабе.

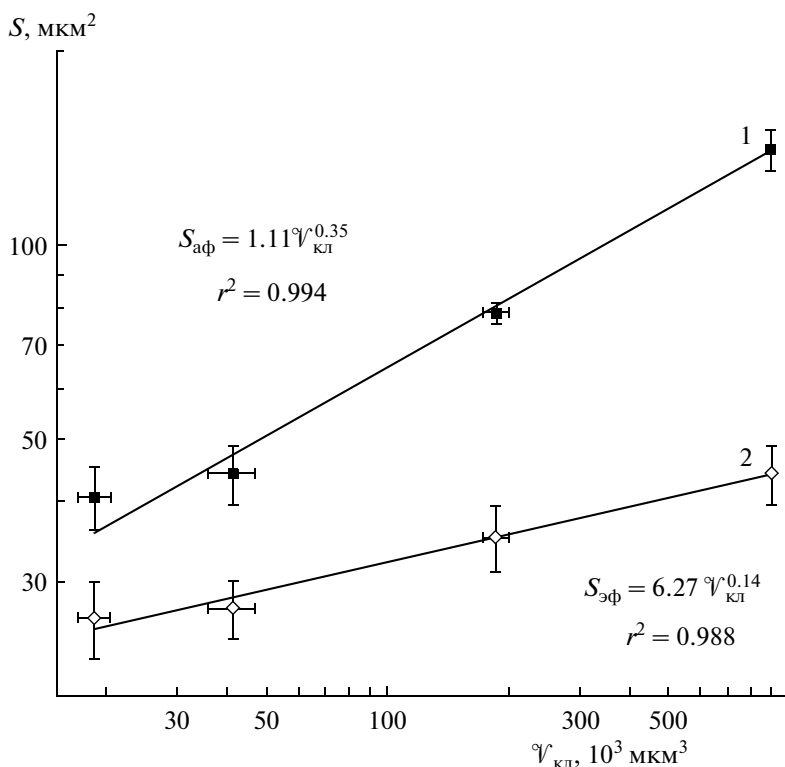


Рис. 3. Связь просвета (S) афферентной (1) и эфферентной (2) артериол с объемом клубочка ($V_{\text{кл}}$) во время постнатального роста крыс. Оси координат представлены в логарифмическом масштабе.

величины и морфологические данные табл. 1, определим, как меняются в онтогенезе скорости кровотока – линейная (V) в артериолах и объемная в клубочках (на 1 см³ их объема).

Рис. 4 показывает, что V в артериолах с возрастом растет, особенно во второй месяц жизни и особенно в артериоле, выходящей из клубочка. В ней она может достичь 6 см/с. Такая высокая скорость

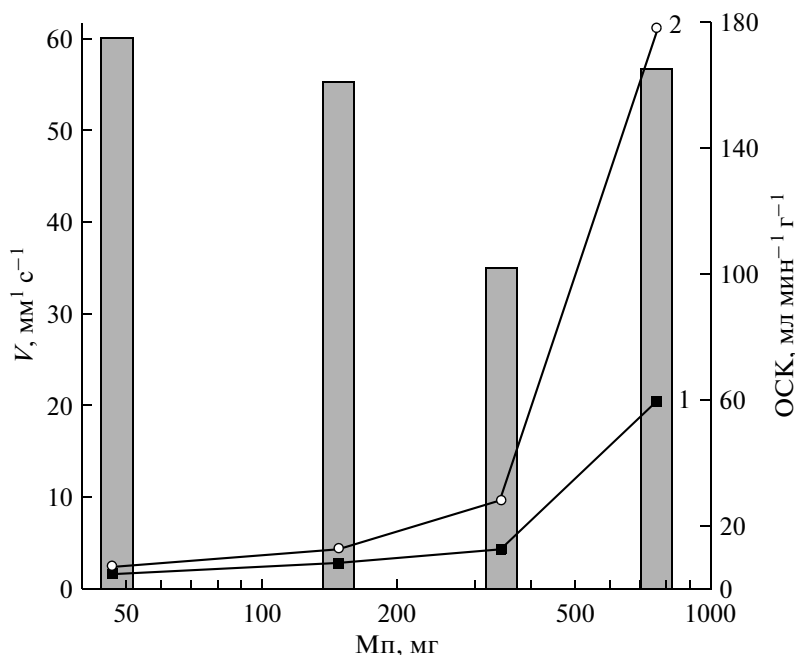


Рис. 4. Линейная скорость кровотока (V , шкала слева) в афферентной (1) и эфферентной (2) артериолах и объемная скорость кровотока (ОСК, столбики и шкала справа) в клубочках в зависимости от массы одной почки (Мп) во время постнатального роста крыс. Детали расчетов см. в тексте.

кровотока, в сочетании с повышенным гематокритом в вытекающей из клубочка крови после ее ультрафильтрации, должна приводить к резкому снижению гидростатического давления в начале постклубочкового русла, в котором происходит обратное всасывание в кровь интерстициальной жидкости. Следует заметить, что прижизненно, когда в артериолах присутствует мышечный тонус, величины V могут быть выше и несколько иные при сравнении афферентных и эфферентных артериол.

Интересно, что с возрастом ОСК в клубочках почти не меняется, сохраняясь в пределах 160–170 мл/(мин см³). Только у месячных крыс с их повышенной величиной $\Sigma V_{\text{кл}}$ (рис. 2) она снижена. Возможно, феномен постоянства ОСК в одном и том же объеме клубочка отражает тесную связь потока крови через клубочек с численностью в нем однотипных капилляров и с их суммарным просветом. Это означает, что и линейная скорость кровотока в клубочковых капиллярах, как и время нахождения крови там могут сохраняться неизменными. Примерные расчеты подтверждают это предположение. Представим, что у всех крыс клубочковые капилляры имеют длину и диаметр, равными 100 мкм и 6 мкм, и они полностью занимают объем клубочка. Тогда у 4-, 12- и 65-суточных крыс число капилляров в 1 см³ почки будет увеличиваться: 3,0, 4,6 и 8,6 ($\times 10^6$). При заданной выше величине почечного ОСК (1,4, 2,0 и 4,0 мл мин⁻¹ см⁻³) V в

клубочковых капиллярах должна равняться у этих крыс близким величинам, мкм/с: 253, 256 и 274.

Таким образом, возрастное увеличение ОСК в почках тесно связано с увеличением суммарного объема почечных клубочков и, наверное, с ростом общего числа клубочковых капилляров. При этом ОСК в самом клубочке (отнесенная к единице его объема) меняется мало, что, возможно, обеспечивает неизменность линейной скорости кровотока в клубочковых капиллярах.

С возрастом просвет клубочковых артериол расширяется существенно меньше, чем увеличивается поток крови через клубочек, что отражает повышение сопротивления клубочкового русла. Наиболее выраженное возрастное отставание сосудистого просвета, наблюдаемое в эфферентных артериолах, должно приводить к большему снижению гидростатического давления в начале постклубочкового русла.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Беличенко В.М., Коростышевская И.М., Максимов В.Ф., Шошенко К.А. Развитие митохондриального аппарата и кровоснабжения скелетных волокон кур в онтогенезе // Онтогенез. 2005. Т. 36. № 2. С. 134–143.
- Шыырапай У.В., Беличенко В.М., Шошенко К.А., Айзман Р.И. Клубочковый аппарат и кровоток в почках крыс в постнатальном онтогенезе // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2008. Т. 94. № 4. С. 456–464.

- Corey H.E., Spitzer A. Renal blood flow and glomerular filtration rate during development. // *Pediatric Kidney*. Boston. Little Broun and company. 1992. V. 1. P. 49–77.
- Klingenberg Ch.P. Heterochrony and allometry: the analysis of evolutionary change in ontogeny // *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 1998. V. 73. № 1. P. 79–123.
- Lu S., Mattson D.L., Roman R.J., Becker C.G., Cowley A.W. Assessment of changes in intrarenal blood flow in conscious rats using laser-Doppler flowmetry // *Am J. Physiol.* 1993. V. 264. F956–F962.
- Nyengaard J.R. Number and dimensions of rat glomerular capillaries in normal development and after nephrectomy // *Kidney Int.* 1993. V. 43. P. 1049–1057.
- Tazawa H., Pearson J.T., Komoro T., Ar A. Allometric relationships between embryonic heart rate and fresh egg mass in birds // *J. Exp. Biol.* 2001. V. 204. № 1. P. 165–174.

Quantitative Relationship of Renal Blood Flow with Size and Density of Glomeruli in Rat Postnatal Ontogenesis

U. V. Shyrapai^{a,b}, V. M. Belichenko^a, K. A. Shoshenko^a, and R. I. Aizman^b

^a State Research Institute of Physiology, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, Novosibirsk, Russia

e-mail: shoshenko@physiol.ru

^b State Pedagogical University, Novosibirsk, Russia

Abstract—The aim of the study was to find the quantitative relationship of postnatal changes in the glomeruli anatomic structure with the blood flow in kidneys. Kidney development was studied in 4-, 12-, 30-, and 65-day-old Wistar rats. Diameters of glomerulus (Dgl, μm), afferent and efferent arterioles (Daf and Def), and the glomeruli density (Ngl, mm^{-3}) were measured posthumously. Volumes of one (V_{gl} , μm^3) and all glomeruli (ΣV_{gl} , mm^3/cm^3) and the glomeruli arterioles lumen (Saf and Sef, μm^2) were calculated. The renal specific blood flow (SBF per unit of kidney weight, KW) was measured by the laser-Doppler flowmeter (in perfusion units, p.u.) under sodium barbamylnarcosis. We have found that, during postnatal growth, glomeruli morphological parameters vary according to the equations: $D_{\text{gl}} = 7.1 \square KW^{0.41}$, $V_{\text{gl}} = 187 \square KW^{1.23}$, $N_{\text{gl}} = 5309 \square KW^{-0.63}$ (KW, mg and for one kidney), $S_{\text{af}} = 1.1 \square V_{\text{gl}}^{0.35}$, and $S_{\text{ef}} = 6.3 \square V_{\text{gl}}^{0.14}$. The renal SBF in 4-, 12-, and 65-day-old rats increases according to $SBF = 6.7 \square (\Sigma V_{\text{gl}})^{0.98}$. The renal SBF calculated per unit of glomeruli volume varies a little with age.

Keywords: ontogenesis, kidney, glomeruli, glomerular arterioles, laser-Doppler flowmetry, renal blood flow, rat