

Функциональное состояние почек и тканевых водно-солевых депо под влиянием пренатальных инъекций дексаметазона

А.В. Петрова, Н.Г. Иглина, Р.И. Айзман

Кафедра анатомии, физиологии и валеологии Новосибирского государственного педагогического университета

The influence of dexamethasone prenatal injections on renal function and tissue water-salt balance in rats

A.V. Petrova, N.G. Jglina, R.J. Aizman

Ключевые слова: беременность, водно-солевые депо, дексаметазон, функция почек.

В работе изучалось влияние ежедневной инъекции в период беременности препарата дексаметазон на водно-электролитный состав тканей и функции почек у потомства крыс линии Вистар. Установлено, что содержание воды, натрия и калия у крысят экспериментальной группы достоверно больше во всех тканях, за исключением головного мозга, по сравнению с контролем. Аналогичная тенденция (особенно в подкожно-жировой клетчатке и печени) наблюдалась в организме матери на 20–21-й день беременности. Почечный ответ на водную нагрузку у 60–70-дневного потомства опытной группы проявился в снижении гидроуретической функции, особенно скорости клубочковой фильтрации, и задержке натрия в организме. Морфологический анализ почек 20-дневного потомства показал уменьшение просвета канальцев и компенсаторное увеличение количества почечных клубочков.

The study of the effect of prenatal dexamethasone (DM) treatment on water-salt balance and renal function of offsprings of Wistar rats is presented. The newborn rats had decreased body weight during first 60 days of their live. The content of water, K⁺ and Na⁺ concentration in all tissue samples were significantly higher in the DM-treated rats than in control group. The same tendency (especially expressed in subcutaneous fat tissue and liver) was observed in pregnant dams. The renal response to water load in 60–70 days old DM-treated rats was characterised by a decrease in hydrouresis (especially in glomerular filtration rate) and by a sodium retention in comparison with control rats. The increase in the number of glomeruli has been revealed in 20-day old rats after prenatal DM-treatment. However dystrophic changes in their proximal and distal tubuli were found morphologically.

Введение

Период эмбрионального развития является одним из критических этапов онтогенеза, который характеризуется закладкой основных жизненно важных функций организма и формированием начальных форм приспособительного поведения [5, 17]. В этот период быстро увеличивается масса тела и отдельных органов, формируются системы гомеостаза, обеспечивающие поддержание ионного состава клеток и внеклеточной жидкости [13]. Рождение здорового потомства во многом зависит от функциональных возможностей, складывающихся в системе мать–плод. Известно, что ряд факторов (в том числе температура, радиация и др.) оказывает значительное влияние на ход эмбрионального развития [12, 14]. Во многих работах показано влияние нарушенного эмбриогенеза на состояние водно-солевого обмена матери и плода [2, 8, 10]. Имеются данные о влиянии гипергидратации и гиперосмии на функции почек беременных крыс и водно-солевой гомеостаз плода [3, 4].

Изменения внутриутробной среды, возникающие в определенные периоды, могут проявляться отдаленными последствиями, приводящими к развитию функциональных нарушений во взрослом возрасте [5, 7]. Ряд экспериментов показал, что использование синтетических глюкокортикоидов, способных проникать через плаценту, влияет на развитие почки у плода и функции почек в постнатальном онтогенезе [21], вызывает уменьшение веса новорожденных, что в свою очередь является риском развития патологии сердечно-сосудистой системы во взрослом возрасте [19, 20]. Имеются литературные данные о применении глюкокортикоидных гормонов, которые не поддаются инактивирующему действию ферментных систем плаценты, с целью сохранения беременности и снижения развития тяжелых осложнений [23]. Но при этом не рассматривается их влияние на развитие функциональных систем плода и особенно потомства. В связи с этим представило интерес провести исследования по влиянию глюкокортикоидов на водно-солевой состав тканей и органов матери и плода, а также на морфо-

Телефон: (3832) 68-05-81 (тел./факс)
E-mail: aizman@fns.nsu.ru

функциональное состояние почек в постнатальном онтогенезе.

Материалы и методы для экспериментальных работ

Эксперименты проводились на беременных крысах линии Вистар и новорожденных крысятах в возрасте 1, 20 и 60 дней. Животные были разделены на две группы. Первую из них составляли экспериментальные самки, которым с первого дня беременности вводили синтетический глюкокортикоид – дексаметазон (0,1 мг/кг, внутривенно), вторую – контрольные животные, которым вводился физиологический раствор. Все животные содержались в стандартных условиях вивария на обычном пищевом режиме.

Для получения беременных животных брали самок 200–250 г в позднем проэструсе и начале эструса и подсаживали на ночь к самцам в соотношении 4:1. На следующее утро для определения беременности у самок из влагалища брали мазок и просматривали под микроскопом. По наличию сперматозоидов в мазке определяли первый день беременности [12].

В обеих сериях потомство взвешивалось на 1, 20-й и 60-й день после рождения. У потомства в возрасте 20 дней определяли содержание воды и электролитов в различных тканях и органах. С этой целью животных декапитировали, и для анализа брались образцы тканей головного мозга, печени, сердца, правой почки, скелетной мышцы бедра и подкожной клетчатки из межлопаточной области. Левая почка забиралась для морфологических исследований.

Определение содержания электролитов в тканях проводилось путем экстракции высушенных необезжиренных образцов в концентрированной азотной кислоте при комнатной температуре [6]. После полного растворения тканевых образцов надосадочная жидкость разводилась в 50 раз и фотометрировалась.

Парциальные функции почек изучали у 60-дневных крысят первого поколения. Перед началом эксперимента крыс взвешивали и помещали в обменные клетки. После сбора фоновой пробы мочи исследовалась реак-

Таблица 1

Масса тела крысят в разные периоды онтогенеза

Возраст потомства, дни	Масса, г	
	контроль (n = 20)	опыт (n = 20)
1	7,8 ± 0,2	5,4 ± 0,25*
20	38,5 ± 0,4	36,6 ± 0,7*
60	206,2 ± 1,4	197,6 ± 2,0*

* – Достоверные различия по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$).

ция почек на пероральное введение водной нагрузки в объеме 5 мл на 100 г массы тела. Пробы мочи собирали с часовыми интервалами в течение трех часов. В конце эксперимента под эфирным наркозом из нижней полой вены забирали пробы крови объемом 5 мл.

Концентрацию электролитов во всех исследуемых образцах и пробах мочи и плазмы определяли методом пламенной фотометрии («FLAPHO-4»). Содержание воды в тканях рассчитывали по разнице «влажного» и «сухого» веса образца.

По общепринятым формулам [15] рассчитывались парциальные функции почек. Различия между показателями контрольной и опытной групп оценивались методом вариационной статистики по t-критерию Стьюдента и считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

При введении дексаметазона продолжительность беременности составляла 21–22 дня, что не отличалось от контроля. Достоверных отличий по количеству новорожденных крысят в помете (контроль – $6,5 \pm 0,8$; опыт – $6,0 \pm 0,6$) не было, однако обнаружены отличия по массе тела крысят. В течение 60 дней постнатального онтогенеза крысята экспериментальной группы имели значительно меньшую массу тела, чем потомство контрольной группы (табл. 1).

Сопоставляя содержание воды и электролитов в тканях опытных крысят по сравнению с контролем, можно отметить достоверные отличия между группами.

Содержание воды, натрия и калия в органах крысят, рожденных от самок, которым вводился дексаметазон в

Таблица 2

Содержание воды (%) и электролитов (ммоль/100 г «сухой» массы) в тканях и органах крыс на 20–21-й день беременности (А) и 20-дневного потомства (Б)

Органы и ткани	H ₂ O		Na		K	
	А					
	контроль	эксперимент	контроль	эксперимент	контроль	эксперимент
Головной мозг	78,4 ± 0,2	76,2 ± 2,5	23,1 ± 0,6	24,0 ± 2,0	53,6 ± 0,5	46,2 ± 2,0*
П/к клетчатка	58,0 ± 2,0	67,9 ± 1,9*	18,5 ± 0,3	22,6 ± 0,3*	3,5 ± 0,2	6,6 ± 0,5*
Печень	69,4 ± 0,3	72,7 ± 1,5*	10,4 ± 0,8	16,4 ± 1,6*	23,1 ± 1,5	44,0 ± 2,4*
Сердце	76,6 ± 0,2	77,5 ± 0,6	20,5 ± 1,0	24,8 ± 2,6	31,9 ± 2,2	35,8 ± 2,7
Мышца	74,5 ± 0,4	75,7 ± 0,7	16,0 ± 1,5	14,7 ± 0,6	34,6 ± 2,0	56,1 ± 3,5*
Почка	75,6 ± 0,3	78,5 ± 0,3*	52,9 ± 1,1	53,7 ± 0,7	56,4 ± 2,0	59,6 ± 0,7
	Б					
Головной мозг	83,6 ± 0,2	82,9 ± 0,1*	40,1 ± 0,9	33,5 ± 0,6*	59,6 ± 1,3	52,6 ± 0,6*
П/к клетчатка	42,7 ± 0,4	47,0 ± 0,9*	8,5 ± 0,3	11,4 ± 0,3*	6,6 ± 0,2	10,6 ± 0,5*
Печень	71,5 ± 0,05	72,3 ± 0,2*	14,3 ± 0,2	16,9 ± 0,7*	30,9 ± 0,4	34,0 ± 0,5*
Сердце	81,5 ± 0,3	80,9 ± 0,2	35,1 ± 0,7	31,7 ± 0,6*	43,6 ± 0,1	45,8 ± 0,5*
Мышца	76,3 ± 0,3	78,2 ± 0,9*	19,4 ± 0,5	25,6 ± 1,3*	40,7 ± 0,5	48,2 ± 2,3*
Почка	77,6 ± 0,3	78,5 ± 0,3*	31,9 ± 1,1	33,7 ± 0,7	35,4 ± 1,0	39,6 ± 0,7*

* – Достоверные различия по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$).

Таблица 3

Содержание ионов в плазме крыс в постнатальном онтогенезе

Возраст потомства, дни	Na ⁺		K ⁺	
	опыт	контроль	опыт	контроль
20	141,6 ± 1,5*	136,0 ± 0,6	4,8 ± 0,3*	4,4 ± 0,4
60	143 ± 1,4*	138,9 ± 1,0	4,4 ± 0,2	4,2 ± 0,2

* – Достоверные различия по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$).

период беременности, было достоверно больше в подкожной клетчатке, печени, мышце и почке, и только в головном мозге этот показатель был достоверно ниже контроля (табл. 2, А).

Концентрация ионов в плазме крысят в постнатальном онтогенезе также выше в экспериментальной группе по сравнению с показателями контрольной группы (табл. 3).

Таким образом, пренатальное введение дексаметазона способствовало задержке воды и электролитов в организме потомства.

В связи с этим представило интерес проанализировать водно-солевой состав тканей материнского организма (табл. 2, Б).

Изменения содержания воды и электролитов у беременных крыс имели такую же направленность, как у потомства. Наибольшие отличия по содержанию воды, натрия и калия наблюдались в подкожно-жировой клетчатке и печени.

Водно-солевой обмен организма зависит не только от состояния тканевых депо, но и от функциональной способности почек.

Для оценки функциональных возможностей почек крыс исследовалась реакция почек на водную нагрузку у животных обеих групп.

Фоновые значения гидроуретической функции почек, особенно скорость клубочковой фильтрации, у экспериментальных крысят была достоверно ниже контроля. Экскреция натрия в опытной группе была на 30% ниже, чем в контрольной, а экскреция калия – снижена незначительно (рис. 1).

В ответ на введение 5% водной нагрузки отмечалось изменение экскреции мочи и электролитов.

Максимальный уровень диуреза в контрольной и опытной группах приходился на первый час наблюдения. При этом экскреция жидкости в экспериментальной группе была достоверно выше, чем в контроле. На 2-й час гидроурез снижался и к 3-му – достигал фонового уровня. При анализе значений клубочковой фильтрации и относительной реабсорбции жидкости различия между контрольной и экспериментальной группами проявились особенно

отчетливо. Так, скорость клубочковой фильтрации у экспериментальных крысят на протяжении всего времени исследования была достоверно ниже контроля. Относительная реабсорбция жидкости имела аналогичную динамику.

Существенно снижалась экскреция натрия в опытной группе на протяжении всего эксперимента по сравнению с контролем. Влияние гипергидратации на калий-уретическую функцию почек в обеих группах было не столь выражено (табл. 4, рис. 1).

Таким образом, введение дексаметазона в период беременности приводило к снижению диуреза за счет уменьшения скорости клубочковой фильтрации и торможения экскреции натрия у потомства I поколения.

Процессы роста и формирования почечных структур у крыс охватывают довольно длительный период их постнатальной жизни [11].

Морфологический анализ показал, что в почках опытной группы наблюдались значительные изменения. Просветы капсул Шумлянского–Боумэна, а также проксимальные и дистальные канальцы были сужены. Однако сформировалось большее количество клубочков (контроль – $1,08 \pm 0,1$; опыт – $1,59 \pm 0,1/\text{мкм}^2$, $p \leq 0,05$).

Обсуждение результатов исследования

В ряде работ, посвященных изучению особенностей постнатального онтогенеза, особое внимание уделяется влиянию глюкокортикоидных гормонов на плод в период внутриутробного развития [22, 26]. Замедление развития плода в матке является важным фактором риска возникновения сердечно-сосудистых нарушений и нарушений обмена веществ во взрослом возрасте [24]. Ключевым моментом подобной предрасположенности может явиться воздействие на плод избытка глюкокортикоидов. Поэтому только комплексная оценка отдаленных показателей развития потомства дает возможность судить о патологических изменениях, возникших в период внутриутробного существования под влиянием дексаметазона.

Известно, что масса эмбрионов зависит от численности плодов в помете [25] и от условий протекания

Таблица 4

Показатели функции почек 60–70-дневных крыс после 5% водной нагрузки (M ± m)

Показатель	Группы животных	Время эксперимента, час			
		фон	1	2	3
V, мл/100 г в ч	контроль	1,5 ± 0,2	3,2 ± 0,1	1,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1
	опыт	0,9 ± 0,1*	3,6 ± 0,2*	1,6 ± 0,07*	0,8 ± 0,1
F, мл/100 г в ч	контроль	12,9 ± 1,3	11,8 ± 0,8	17,6 ± 0,4	15,1 ± 1,0
	опыт	7,5 ± 0,5*	11,1 ± 1,6*	9,8 ± 1,3*	12,7 ± 0,8
R _{н₂O} , %	контроль	98,9 ± 0,01	98,2 ± 0,1	97,0 ± 0,3	95,2 ± 0,6
	опыт	98,5 ± 0,01*	79,9 ± 1,0*	86,9 ± 0,8*	94,0 ± 0,2*
U _{Na} · V, мкмоль/100 г в ч	контроль	96,4 ± 4,5	80,5 ± 3,0	42,6 ± 3,2	69,1 ± 6,4
	опыт	62,5 ± 4,4*	51,6 ± 4,2*	31,8 ± 2,8*	46,9 ± 4,1*
U _K · V, мкмоль/100 г в ч	контроль	28,9 ± 3,1	36,2 ± 2,8	19,5 ± 2,0	21,0 ± 3,0
	опыт	26,1 ± 2,9	32,5 ± 3,5	17,4 ± 1,4	24,6 ± 1,8
EF _{Na} , %	контроль	4,1 ± 0,4	3,9 ± 0,5	2,1 ± 0,2	3,1 ± 0,2
	опыт	4,9 ± 0,7	2,8 ± 0,4*	2,6 ± 0,2*	1,9 ± 0,2*
EF _K , %	контроль	21,8 ± 1,5	28,4 ± 3,0	19,6 ± 2,0	18,4 ± 1,4
	опыт	26,5 ± 1,2	25,8 ± 1,4	19,2 ± 1,3	21,3 ± 1,1

* – Достоверные различия по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$).

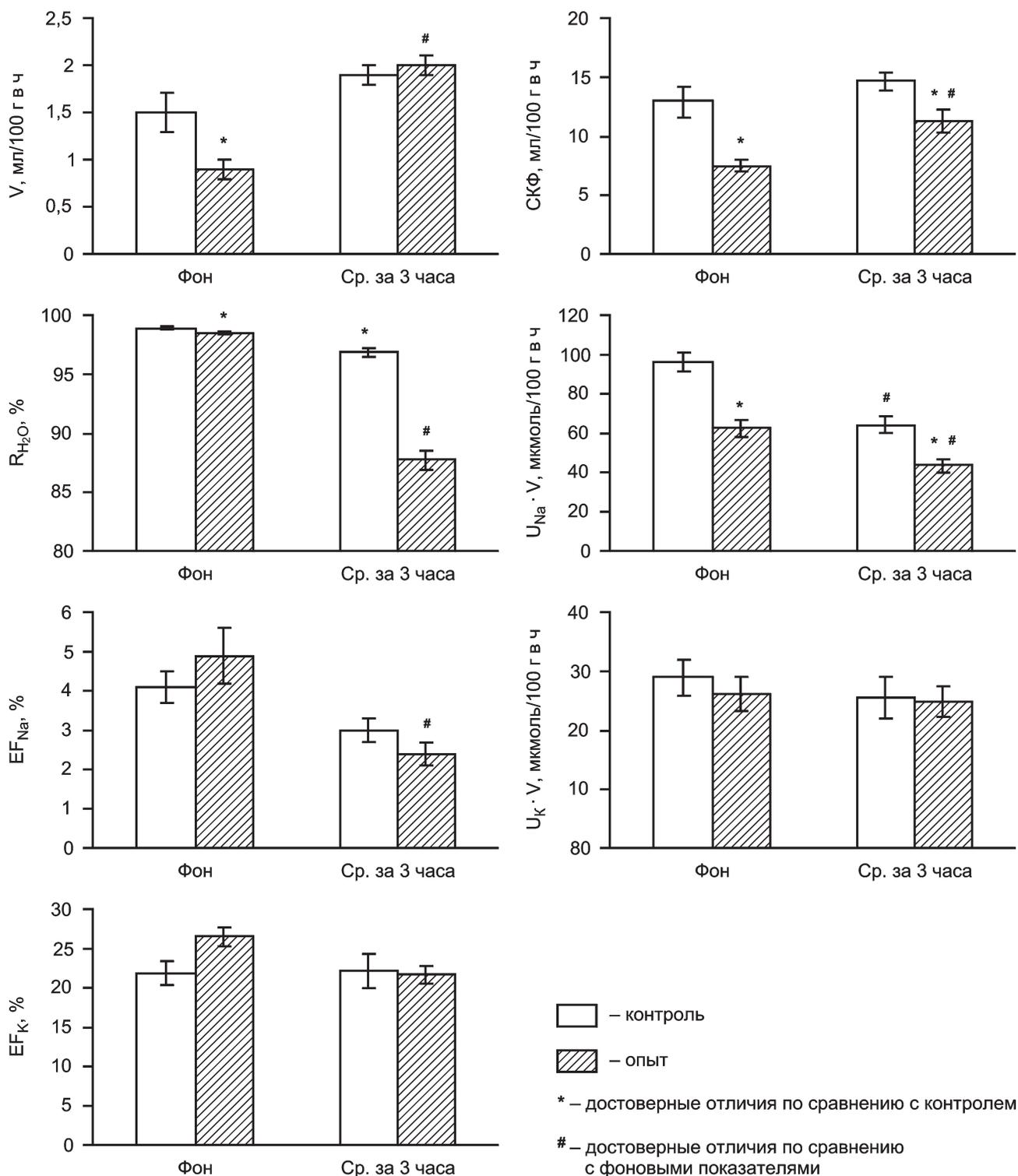


Рис. 1. Показатели функции почек 60–70-дневных крыс после 5% водной нагрузки

беременности.

Анализируя полученные данные, мы выявили, что масса тела крысят на 1, 20-й и 60-й дни постнатального онтогенеза в опытной группе ниже контроля, хотя численность потомства в помете была одинакова.

На 20-й день у крысят экспериментальной группы наблюдалось увеличение содержание воды и катионов во всех тканях и органах, за исключением головного мозга. Особенно это проявлялось в подкожно-жировой

клетчатке и мышцах – основных тканевых водно-солевых депо [2]. Возможно, это отражает незрелость этих тканей к указанному периоду постнатального онтогенеза. У беременных крыс наблюдалась аналогичная тенденция, что может быть также причиной тканевой гипергидратации и увеличения содержания электролитов в тканях потомства.

Имеются данные, что замедление внутриутробного развития плода особенно неблагоприятно влияет на

развитие почек, а именно: приводит к уменьшению количества нефронов в активный период нефрогенеза [22]. По нашим данным, пренатальное введение дексаметазона вызывало у 20-дневного потомства сужение просветов капсул Шумлянско-Боумэна, уменьшение просвета дистальных и проксимальных канальцев и компенсаторное увеличение количества клубочков.

В процессе постнатального онтогенеза происходит развитие всех микро- и макроструктур нефрона, определяющих функциональные возможности почек [16]. Важнейшими чертами онтогенеза почки являются увеличение скорости клубочковой фильтрации, повышение реабсорбции в проксимальных канальцах, появление способности к осмотическому концентрированию мочи [9].

Проанализировав функции почек у 60-дневных крысят в ответ на введение 5% водной нагрузки, мы выявили снижение уровня фильтрационно-реабсорбционных процессов и уменьшение экскреции ионов в экспериментальной группе на протяжении всего периода исследования.

Такое снижение гидро- и ионоэксcretирующей функции почек, вероятно, отражает активацию гормональных механизмов, вызывающих их задержку в организме. Этот эффект имеет длительное последствие и проявляется даже через 2 месяца после рождения. Насколько он устойчив в онтогенезе и передается ли в поколениях, требует дальнейшего изучения.

Литература

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфология. М.: Медицина 1990: 192.
2. Айзман Р.И., Великанова Л.К. Формирование в онтогенезе ионодепонирующей функции тканей крыс. Журнал эволюции, биохимии и физиологии 1978; 6: 597–598.
3. Айзман Р.И., Великанова Л.К., Быструшкин С.К., Студилина Т.Г., Третьякова В.В. Взаимосвязь водно-солевого обмена материнского и плодового организмов при гипергидратации беременных крыс. Формирование интеграции функциональных систем в процессе онтогенеза. Новосибирск, 1978: 34–43.
4. Айзман Р.И., Быструшкин С.К., Склянов Ю.В. Водно-солевой обмен материнского и плодового организмов при гидратации в различные периоды беременности. Физиол. журнал им. И.М. Сеченова 1992; 78 (6): 97–104.
5. Ариавский И.А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития. М.: Наука, 1982.
6. Берхин Е.Б., Иванов Ю.И. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена. Барнаул, 1972: 199.
7. Глазырин А.Л., Беляев Л.Л. Транспорт высокомолекулярных веществ матери и плода при продленной беременности у крыс. Всесоюз. Конф. Новосибирск, 1985: 43–44.
8. Денисова Л.А., Наточин Ю.В., Серова П.В., Шахматова Е.И. Водно-солевой баланс и формирование почки в эмбриогенезе млекопитающих. В кн.: Онтогенез почки. НГПИ. Новосибирск, 1984: 3–14.
9. Длоуга Г. Микропункционное исследование некоторых показателей функций почки крыс в процессе развития. Журнал эволюции, биохимии и физиологии 1975; 11: 53–57.
10. Ельцова Н.Г., Айзман Р.И., Склянова Н.А. Особенности водно-электролитного обмена плодов и беременных крыс при венозном застое. В кн.: Формирование интеграции функциональных систем в процессе онтогенеза. НГПИ. Новосибирск, 1991: 43–49.
11. Зуфаров К.А., Гонтмахер В.М. Структурно-функциональная характеристика почек в постнатальном онтогенезе. НГПИ. Новосибирск, 1984: 14–25.
12. Кабак Я.М. Основные методы экспериментально-эндокринологических исследований. Практикум по эндокринологии. М.: Медицина, 1968.
13. Керпель-Фрониус Э. Патология и клиника водно-солевого обмена. Академия Наук Венгрии. Будапешт, 1964: 50–76.
14. Кирющенко А.П. Влияние вредных факторов на плод. М.: Медицина, 1978: 190–270.
15. Наточин Ю.В. Физиология почки. Формулы и расчеты. Л.: Наука; 60.
16. Наточин Ю.В. Функциональная эволюция водно-солевого гомеостаза. В кн.: Вопросы эволюционной физиологии. Л., 1982: 223–224.
17. Цирельников Н.И. Гистофизиология плаценты человека. Новосибирск: Наука, 1980: 25–30.
18. Христулюбова Н.Б., Мельникова В.А., Шиллов А.Г. Приготовление цитологических препаратов для стерометрического анализа и некоторые практические приемы «ручной» морфометрии. Новосибирск, 1974: 24–32.
19. Barker D., Osmond C., Golding J., Wadworth M. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. BMJ 298. 1989: 564–567.
20. Baker D., Bull A., Osmond C., Simmond S. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. BMJ 301. 1990: 259–262.
21. Benediktsson R., Lindsay R., Noble J., Seckl J., Edwards C. Glucocorticoid exposure in utero: new model for adult hypertension. Lancet 341. 1993: 339–341.
22. Celsi G., Kistner A., Aizman R., Ekluf A., Ceccatelli S., Santiago A. Prenatal Dexametasone causes oligonephronia, sodium retention and higher blood pressure in the offspring. Pediatric Research 3. 1998: 317–322.
23. Dodic M., Peers A., Wintour M. Trends in Endocrinology and Metabolism. 1999: 86–91.
24. Edwards C., Benediktsson R., Lindsay R., Seckl J. Dysfunction of placental glucocorticoid barrier: link between fetal environment and adult hypertension. Lancet 341. 1993: 355–357.
25. Mc Carthy J. The effect little size of crossing inbred strains of mice. Genetics 51. 1965: 217–235.
26. Navarro H., Lachowicz J., Bartolome J., Whitmore W., Slotkin T. Effect of prenatal dexamethasone on development of ornithine decarboxylase activity in brain and peripheral tissues of rats. Pediatric Research 24. 1988: 465–469.