

Л. Ф. НИКИФОРОВСКАЯ, В. В. ВИНОГРАДОВ, В. Г. РОЗИН, Л. И. БАТЕНКО

КИСЛЫЕ МУКОПОЛИСАХАРИДЫ ПОЧЕК ГРЫЗУНОВ

(Представлено академиком В. Н. Черниговским 21 XII 1970)

Кислым мукополисахаридам (гликозаминогликанам) отводится немаловажная роль в механизме факультативной реабсорбции воды в почке (¹). Однако данные о содержании, составе и точной локализации этих соединений в структурах почки далеко недостаточны и получены главным образом в результате гистохимических исследований. Попытка биохимического анализа гликозаминогликанов в почках белых крыс была предпринята Оллоуф с сотрудниками (²). Однако гликозаминогликаны определялись ими в целой почке без выяснения количества и состава этих соединений в ее различных зонах.

В настоящей работе авторы попытались определить содержание и состав гликозаминогликанов (раздельно для корковых отделов, наружной мозговой зоны и сосочка) в почках у грызунов с различной экологической специализацией, обладающих различной структурной организацией сосочка и связанной с этим различной концентрирующей способностью. Локализация этих соединений уточнялась с помощью гистохимических методов, в том числе с помощью реакции Хэйла, специально отработанной для электронномикроскопического выявления гликозаминогликанов. Кроме того, исследовалось изменение содержания кислых мукополисахаридов (МПС) в почке при недостатке воды (при «сухождении») и при введении антидиуретического гормона (АДГ).

Работа выполнена на белых крысах, серых крысах-пасюках (*Rattus norvegicus* Berk), краснощеких (*Citellus erythrogenus* Br.) и длиннохвостых (*Citellus undulatus* Pall.) сусликах, водяных крысах (*Arvicola terrestris*), степных пеструшках (*Lagurus lagurus* Pall.), больших (*Rhombomys opimus* Licht.), краснохвостых *Meriones erythraeus* и монгольских (*Meriones unguiculatus*) песчанках.

Для биохимического исследования животные забивались декапитацией. Почки разделялись на корковую зону и мозговое вещество, из которого иссекался сосочек. Для одного анализа объединялся материал, полученный от 20—50 животных, что позволяло рассматривать полученные данные как средние для данного вида (или для данного функционального состояния). Кислые мукополисахариды экстрагировались из сухой обезжиренной ткани с применением протеолитических ферментов (³). Фракционирование проводили на ионообменнике ДЕАЕ — Сефадекс (А-25, средний) по Шмидту (⁴). Фракции анализировали по уроновым кислотам (⁵). Исследование отношения выделенного субстрата к действию тестикулярной гиалуронидазы проводилось с помощью турбидиметрического метода (⁶).

На гистологических препаратах гликозаминогликаны выявлялись с помощью метода Хэйла, при окраске толудиновым синим при различных рН (от 1,0 до 6,0), при параллельном контроле тестикулярной гиалуронидазой (25 мг-% при 37° 2 часа).

Для локализации гликозаминогликанов на ультраструктурном уровне был использован метод Хэйла, позволяющий получить преципитаты с высокой электронной плотностью. Под эфирным или нембуталовым наркозом вскрывалась брюшная полость, отпрепарировалась брюшная

аорта каудальнее почечных артерий, и в нее нагнетался физиологический раствор при давлении около 70 мм рт. ст. (выше отхождения почечных артерий аорта с началом перфузии пережимается, а каудальная полая вена вскрывается). После промывки сосудов физиологическим раствором (с добавлением нитрита натрия в качестве сосудорасширяющего средства) почки перфузируются 8% раствором формальдегида (15 мин., около 50 мл раствора). Затем тушка животного выдерживается два часа при 5°, после чего почки иссекаются и помещаются в 4% раствор формальдегида на фосфатном буфере с pH 7,4 на сутки при 5°. Сосочек раскладывается на срезы толщиной около 0,3—0,5 мм. Срезы дегидратируются в спиртах, вновь доводятся до воды и помещаются в реактив Хэйла на 1—2 часа. После обработки срезов 2M уксусной кислотой и реактивом Перма срезы дофиксируются осмиевой кислотой, измельчаются и заключаются в смесь предполимеров бутил- и метил-метакрилатов (8:1). Полимеризация ультрафиолетом 48 час. Оценка блоков и заточка пирамиды — под контролем оптического микроскопа.

Проведенные гистохимические исследования показали, что у всех видов грызунов, адаптированных к постоянному или временному недостатку воды, ткани которых обладают достаточно высокой концентрирующей способностью, в интерстициальной ткани сосочка обнаруживаются кислые МПС в большей или меньшей концентрации. Их количество у разных видов неодинаково и снижается в ряду: крысы → суслики → пеструшки → песчанки. Следует заметить, что у последних видов выявляемые белково-мукополисахаридные комплексы находятся в состоянии частичной деполимеризации. В интерстициальной ткани корковых отделов и наружной мозговой зоны МПС гистохимически не выявляется.

Эти данные были подтверждены (к сожалению, пока не для всех видов) в биохимических исследованиях (табл. 1). Видно, что максимальные количества МПС содержатся в сосочке, где их концентрация может быть в 10—15 раз выше, чем в корковых отделах. Что касается наружной мозговой зоны, то приведенные цифры, по-видимому, следует рассматривать как весьма приблизительные, так как разделение вещества почки точно по границе с корковым веществом и сосочком практически невозможно. Отсюда несколько большая концентрация МПС в наружной мозговой зоне, по сравнению с корой, может быть обусловлена примесью материала основания сосочка. Примечательно, что в сосочке преобладает именно гиалуроновая кислота (ГК), на долю которой приходится до 88—91% всех выделенных МПС (лишь в сосочке почки суслика ее содержание значительно ниже и составляет около 55—58%). Эти данные представляют особенно интересными в свете исследований о роли гиалуроновой кислоты в формировании тканевого «гелевого фильтра», в значительной мере определяющего степень проницаемости ткани (в том числе и для

Таблица 1

Содержание и состав кислых мукополисахаридов в почках грызунов

Вид	Кора			Наружная мозговая зона			Сосочек		
	содержание, мг/г	ГК, %	ХСК, %	содержание, мг/г	ГК, %	ХСК, %	содержание, мг/г	ГК, %	ХСК, %
Белая крыса	1,5 ± 0,11	47 ± 0,7	53 ± 0,7	2,75 ± 0,12	76 ± 0,4	24 ± 0,5	13,6 ± 0,21	88,4 ± 0,2	11,6 ± 0,1
Серая крыса-пасюк	—	—	—	—	—	—	20,7 ± 1,64	91,23 ± 0,2	8,77 ± 0,3
краснощекий суслик	1,2	28	72	2,2	30,7	69,3	7,2	54,5	45,4
(май, июнь)	1,5	37,6	62,4	3,14	40,6	59,4	10,0	57,5	42,5

воды) (⁷). Что касается фракции сульфатсодержащих МПС, то их природа окончательно не установлена. Тестикулярная гиалуронидаза расщепляет не более 18% от их общего количества, поэтому приведенное в табл. 1 обозначение ХСК является в значительной степени условным, так как можно думать, что в состав этой фракции входят соединения типа хондроитинсерной кислоты — А (ХСК — А), хондроитинсерной кислоты — С (ХСК — С) и гепаритинсульфата.

Гистохимическими исследованиями, в том числе выполненными и авторами настоящего сообщения, было неоднократно установлено, что введение животному АДГ гипофиза или перевод на режим «сухоядения» приводят к значительному уменьшению (а порою и к полному исчезновению) гистохимически выявляемых МПС в интерстициальной ткани сосочка почки. По-видимому, с недостатком воды в пище может быть связано и низкое содержание МПС в сосочке почки грызунов засушливой и аридной зоны (у пеструшек, песчанок, длиннохвостых сусликов).

Проведенные биохимические исследования на белых крысах показали, что уже через 6 дней «сухоядения» (влажность корма от 6 до 9%) количество кислых МПС в сосочке падает до 5,3 мг/г, из них на ГК приходится около 60—65%. Таким образом, содержание ГК в этих условиях падает с 11,5—12,5 до 3,2—3,5 мг/г, т. е. в три с лишним раза, тогда как концентрация сульфатированных МПС остается практически неизменной. Близкая картина наблюдается и при введении животным АДГ (40 мед. питуитрина на 100 г веса). Содержание МПС в сосочке снижается до 3,8 мг/г, что прежде всего обусловлено резким падением концентрации ГК (до 2,25 мг/г), тогда как содержание сульфатированной фракции практически не изменяется. Эти данные позволяют полагать, что при недостатке воды или при введении АДГ значительно повышается проницаемость гелевого фильтра (разделяющего такие функциональные структуры сосочка, как собирательные трубки, петли Генле и кровеносные сосуды системы *vasae rectae*. Это повышение проницаемости обусловлено, в первую очередь, деполимеризацией ГК.

Как показали электронномикроскопические исследования, кислые МПС (во всяком случае те из них, которые способны связывать коллоидальную гидроокись железа) локализованы исключительно в межклеточном веществе интерстициальной ткани сосочка, но отсутствуют в базальных мембранах и в межклеточном веществе эпителия собирательных трубок (рис. 1, см. вклейку к стр. 971).

В противоположность приведенным выше данным, у грызунов с низкой концентрирующей способностью почек, например, у водяных крыс (⁸), интерстициальная ткань сосочка практически не содержит гистохимически выявляемых кислых МПС. Эти данные подтверждают и результаты биохимических исследований: у водяных крыс содержание кислых МПС в сосочке почки не превышает 1,4 мг/г, это соответствует их содержанию в коре (1,36 мг/г). При этом и соотношение фракций в сосочке примерно такое же, как и в коре: в сосочке ГК составляет $38,6 \pm 1,38\%$ от всех выделенных МПС, а в коре $35,8 \pm 0,93\%$.

Сопоставление приведенных выше данных позволяет заключить, что кислые МПС сосочка почки, действительно, могут играть важную роль в регуляции реабсорбции воды из собирательных трубок (в силу лабильности образуемого их белковыми комплексами гелевого фильтра интерстициальной ткани). Но это, по-видимому, имеет место лишь у животных, обладающих хорошо развитым и структурно оформленным концентрирующим аппаратом (крысы, суслики, пеструшки, песчанки и близкие к ним по экологической специализации животные). У таких животных скопление кислых МПС в сосочке может рассматриваться как структурный компонент этого концентрирующего аппарата. Если такой концентрирующий мочу аппарат почки не развит (у водяной крысы, ондатры и, по-видимому, у близких к ним по образу жизни животных), то не происходит и накоп-

лении в сосочке кислых МПС. Можно думать, что степень насыщенности сосочка кислыми МПС, наряду со степенью развития самого сосочка, может служить определенным тестом для суждения об экологической специализации вида.

Институт физиологии
Сибирского отделения Академии наук СССР
Новосибирск

Поступило
17 XII 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Г. Гинецинский, Физиологические механизмы водно-солевого равновесия, М.—Л., 1963. ² D. Allalouf, A. Ber, N. Sharon, *Biochim. et biophys. acta*, 83, № 3 (1964). ³ A. Lentonen, *Acta physiol. scand., Supplementum*, 310 (1968). ⁴ M. Schmidt, *Biochim. et biophys. acta*, 63, № 2 (1962). ⁵ T. Bitter, H. Muir, *Anal. Biochem.*, 4, № 4 (1962). ⁶ N. Di Ferrante, *J. Biol. Chem.*, 220, № 1 (1956). ⁷ T. C. Laurent, *Federat. Proc.*, 25, № 3 (1966). ⁸ М. А. Дробышевская, Л. Н. Иванова, Я. Д. Финкимштейн, Сборн. Адаптация к условиям аридной зоны, Новосибирск, 1970.