ISSN 1561-6274. Нефрология. 2001. Том 5. № 1

© Коллектив авторов, 2001

УДК 616.61-089.87-07-018:599.323.4

В.А.Титова, И.К.Клемина, А.М.Есаян, В.В.Козлов, В.В.Барабанова

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ОСТАВШИХСЯ НЕФРОНОВ КРЫС ПРИ СУБТОТАЛЬНОЙ НЕФРЭКТОМИИ

V.A.Titova, I.K.Klemina, A.M.Essayan, V.V.Kozlov, V.V.Barabanova

INVESTIGATION OF STRUCTURAL CHANGES OF THE REST OF NEPHRONS IN RATS AFTER SUBTOTAL NEPHRECTOMY

Научно-исследовательский институт нефрологии, курс нефрологии и диализа Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П.Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

Проведено обобщение материалов собственных работ коллектива авторов, посвященных исследованию механизмов повреждения оставшихся нефронов почки крыс при субтотальной нефрэктомии, в основу которого положены данные преимущественно морфологических исследований. Выделены определенные этапы развития структурных изменений клубочков. Анализируются результаты сравнительных исследований развития нефросклероза на разных линиях крыс, имеющих структурно-функциональные особенности сосудистой стенки. Обсуждаются механизмы влияния диеты с повышенным содержанием белка и малобелковой диеты на ранние структурные изменения капилляров клубочков.

Ключевые слова: субтотальная нефрэктомия, ранние структурные изменения.

ABSTRACT

The materials of personal studies of the collective of investigators are devoted to researching the mechanisms of damage to the rest of the nephrons of the kidney in rats after subtotal nephrectomy based mainly on morphological data. The stages of the development of structural changes of glomeruli are determined. Results of comparative researches of the development of nephrosclerosis were analyzed in different strains of rats having structural-functional peculiarities of the vascular wall. Mechanisms of the influence of a diet with the increased content of proteins and of a diet with lower content of proteins on early structural changes in glomerular capillaries are discussed.

Key words: subtotal nephrectomy, early structural changes.

ВВЕДЕНИЕ

Исследование структурных изменений в почках на терминальных стадиях развития почечной недостаточности практически не дает возможности идентифицировать исходное (первичное) заболевание, что позволяет полагать существование общих механизмов, которые обусловливают прогрессирование заболеваний почек в азотемический период [19]. Согласно существующим представлениям [6], общим механизмом, который обусловливает переход от нозологической фазы развития нефросклероза к синдромальной, является сосудистый фактор — развитие блока почечного кровотока на разных структурных уровнях, что объясняет интерес к экспериментальным исследованиям, которые могли бы дать возможность поэтапно исследовать влияние сосудистых нарушений на почечные структуры. Такой экспериментальной моделью стала субтотальная нефрэктомия (поэтапная резекция почки), получившая оценку как модель хронического заболевания, при котором значительная редукция функционирующей массы сочетается с прогрессирующим гломерулярным склерозом и протеинурией [16, 23]. В данной работе авторы подводят итоги проводимых структурных исследований с целью исследования неиммунных механизмов повреждения оставшихся нефронов и апробации методов коррекции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В экспериментах исследовали нормотензивных крыс линии Вистар, спонтанно гипертензивных крыс (СГК) и контрольных к ним нормотензивных крыс Вистар—Киото (ВКИ). Все животные к моменту операции имели возраст 8 нед. Животным удаляли полюса левой почки, а спустя 1 нед — правую почку [1]. В целом объем резецированной ткани составил 75—85%

от общей массы двух почек. В зависимости от целей эксперимента животные содержались на стандартной диете либо малобелковой и диете с белковой нагрузкой (с содержанием, соответственно, 18%, 4% и 40% белка животного происхождения). Перед первым этапом операции и перед забоем у крыс собирали мочу для биохимических исследований, кровь брали в момент проведения первого этапа операции и перед забоем. Контролем служили данные биохимических исследований крови и мочи ложно оперированных животных в соответствующие сроки после ложной операции. Все исследования проводили рутинными методами. Животных забивали в сроки: 1, 2, 4, 8 и 12 нед после субтотальной нефрэктомии. Оставшуюся почку фиксировали в формалине, срезы окрашивали гематоксилин-эозином, хромотропом и изучали с помощью светового микроскопа для оценки состояния и размера клубочков и развития тубулоинтерстициальных изменений (ТИИ). Выраженность морфологических изменений канальцев, клубочков, интерстиция и сосудов оценивали полуколичественно (0—3 балла).

Для статистической обработки материала использовали t-критерий Стьюдента и непараметрические методы корреляции.

Для трансмиссионного электронно-микроскопического исследования кусочки коркового вещества фиксировали в глутаральдегиде с последующим осмированием и заливкой в эпоксидные смолы. Ультратонкие срезы получали с помощью ультратома Ultracat (Reichert), которые просматривали в электронном микроскопе Hitachi-300. Параллельно для оценки подоцитарного покрытия гломерулярных петель применили сканирующую электронную микроскопию [20]. Дополнительно исследовали гломерулярный фильтр с помощью электронно-гистохимических методик окраски на Ca^{2+} [10], гликозоаминогликаны [21], а также метода перфузии хлористым лантаном [11, 22].

Исследование тромбоцитарного звена гемостаза проведено совместно с кафедрой патофизиологии [12, 13]. Подробно методики, использованные в каждой серии экспериментов, приводятся в оригинальных работах, ссылки на которые представлены в библиографическом указателе.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование структурных изменений почки крыс Вистар методами световой и электронной микроскопии. У контрольных животных морфологическая картина состояния интерстиция и клубочков соответствовала норме [1, 23] (рис. 1, а, б). На ранних этапах после второго этапа операции (1 нед) в клубочках преобладали явления внутреннего гидронефроза с расширением мочевого пространства Боуменовой капсулы (БК) клубочков при отсутствии либо слабой выраженности ТИИ. В клубочках наблюдалось расширение мочевого пространства БК, петли капилляров были спавшимися, в отдельных клубочках обнаруживался белковый выпот в капсулу. Просветы канальцев умеренно расширены, в единичных случаях наблюдались воспалительные изменения стромы, связанные с формированием послеоперационного рубца.

Через 2 нед у части животных сохранялись явления внутреннего гидронефроза в виде небольшого расширения БК, умеренного расширения просвета канальцев, местами был выражен отек стромы. В ряде клубочков отмечалась очаговая пролиферация клеток мезангия. Развитие ТИИ достигало различной степени выраженности. В ряде клубочков через 2 нед, помимо расширения капсулы, отмечалось небольшое увеличение диаметра клубочков, петли капил-

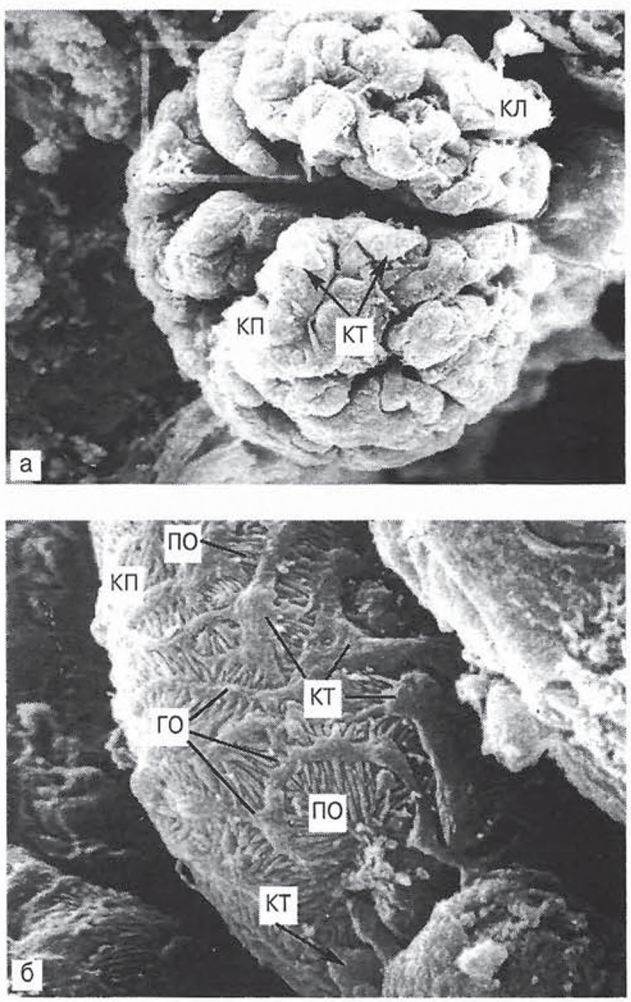

Рис. 1. Клубочек почки крысы линии Вистар, контроль.

а — сканирующая электронная микроскопия. б — капиллярная петля того же клубочка, выделенная на предыдущей фотографии.

КЛ — клубочек; КП — капиллярные петли; КТ — клеточные тела подоцитов; ГО — главные отростки подоцитов; ПО — подии. Ув.: а — 1000; б — 5000.

ляров были раздуты. В целом явления внутреннего гидронефроза держались до 2 нед после операции. В интерстиции наблюдались дистрофические изменения эпителия канальцев, вплоть до образования кист. Местами — тиреоидное перерождение канальцев. Эпителий оставшихся канальцев резко гипертрофирован, межклеточные щели расширены. При электронно-микроскопическом исследовании наблюдались признаки функционального напряжения подоцитов: увеличение числа микротрубочек и микрофиламентов, уплотнение матрикса педикул. Связь педикул с базальной мембраной была сохранена.

Через 4 нед после субтотальной нефрэктомии в оставшейся почке были увеличены размеры клубочков. В ряде клубочков капсулы были расширены. Имела место небольшая либо умеренная пролиферация клеток мезангия. При электронно-микроскопическом исследовании в цитоплазме подоцитов были увеличены число и размеры митохондрий, цистерн и вакуолей аппарата Гольджи; цистерны эндоплазматического ретикулума расширены, нарастало количество рибосом. Ядра подоцитов были увеличены в размерах, часто встречались инвагинации ядер. Педикулы подоцитов в основном были сохранены, однако местами укорочены и расширены, определялось большое число микроворсинок на поверхности подоцитов и париетального эпителия капсулы. Эпителий проксимальных канальцев в отдельных участках был гипертрофирован, межклеточные щели расширены. В целом выраженность ТИИ варьировала от незначительных до выраженных. Картина этого периода соответствует периоду увеличения функции нефронов, что подтверждается имеющимися в литературе доказательствами развития гиперфункции нефронов в период 14–30 дней после субтотальной нефрэктомии [5, 17].

Через 8 нед в сравнении с предыдущим сроком наблюдения отмечалось значительное увеличение размеров клубочков: объем их вдвое превосходил первоначальный ($p=0,01$); в большей степени выражена пролиферация клеток мезангия, увеличение мезангиального матрикса, сдавление ряда капиллярных петель. Ядра подоцитов и эндотелия были резко увеличены в размерах, отечны. В некоторых клубочках были видны сращения капилляров между собой с образованием лапчатости и сращений с капсулой. Электронно-микроскопические исследования выявили в подоцитах и мезангиальных клетках скопление осмиофильных гранул (рис. 2), что указывает на возникновение дефекта проницаемости гломерулярного фильтра для белка. Цитоплазма подоцитов местами была обеднена органеллами, в отдельных капиллярных петлях были очагово слиты педикулы подоцитов.

Через 12–14 нед в ряде клубочков обнаруживался сегментарный склероз (рис. 3), в остальных клубочках — пролиферация клеток мезангия.

При электронно-микроскопическом исследовании вне зоны склероза — обилие осмиофильных гранул в подоцитах и мезангиальных клетках, запустевание цитоплазмы части подоцитов с деструкцией органелл и образованием вакуолей, полное слияние педикул подоцитов ряда капиллярных петель, в то время как в соседних петлях педикулы были сохранены. Наблюдались участки базальной

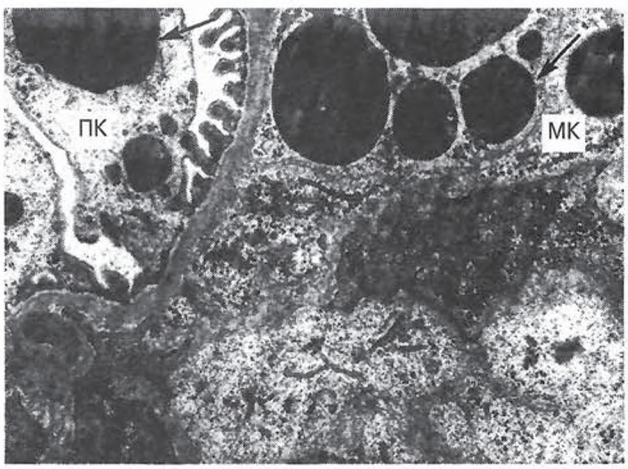

Рис. 2. Участок капиллярной петли крысы через 12 нед после операции субтотальной нефрэктомии.

Трансмиссионная электронная микроскопия. Видны осмиофильные белковые капли (стрелки) в цитоплазме подоцитов (ПК) и мезангиальных клеток (МК). Ув. 15 000.

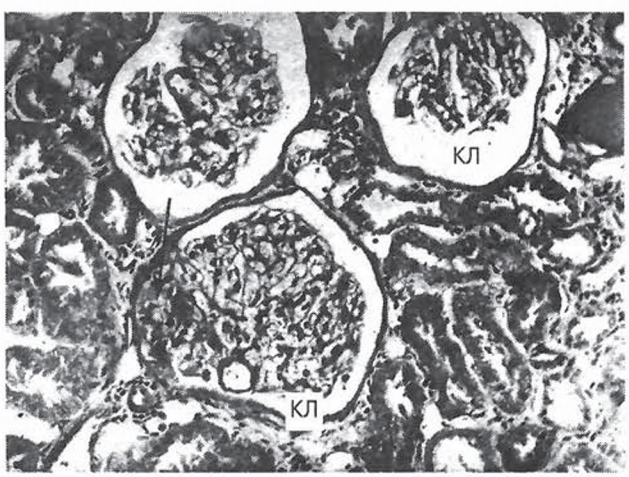

Рис. 3. Микрофотография светооптического препарата клубочка почки крысы линии Вистар через 12 нед после субтотальной нефрэктомии.

Стрелка указывает сегментарный склероз. Остальные обозначения те же, что на рис. 1. Ув. 300.

мембраны (БМ), лишенные подоцитарного покрытия (рис. 4).

Проведенный корреляционный анализ данных морфологического исследования у крыс линии Вистар, при котором сопоставлялись структурные изменения клубочков, канальцев и интерстиция, выявил достоверные связи (см. ниже).

Гистохимическое исследование сохранности анионных участков БМ и гликокаликса подоцитов и эндотелия показало, что в сравнении с контрольными животными, у которых окраска полианионными красителями выявила сохранность названных структур, через 12 нед после субтотальной нефрэктомии у животных наблюдается редукция окраски анионных структур. Анионное покрытие подоцитов у клеток, не подвергнувшихся деструкции, сохраняется в клеточной части и главном отростке и редуцируется на ножковых отростках при их деформации (рис. 5). На функционирующих канальцах сохраняется анионное покрытие щеточной каймы, цитолеммальных складок, в сохранных участках интерстиция отчетливо виден гликокаликс эндотелия перитубулярных капилляров. При перфузии хлористым лантаном катионизированная часть метки у контрольных крыс оседает на гликокаликсе клеток гломерулярного фильтра, у оперированных крыс участки фильтра, подвергшиеся деструкции, не связывают катионизированный краситель. Прежде всего такие участки выявляются вблизи ворот клубочка. У контрольных животных Lamina densa задерживает некатионизированную часть красителя, в то время как у оперированных животных функция Lamina densa нарушается, вследствие чего гранулы красителя определяются за пределами фильтра [11].

Гистохимическая реакция, выявляющая внутриклеточный Ca^{2+}, показала, что Ca^{2+}, являясь положительно заряженным элементом, связывается анионами гликокаликса, способствуя, таким образом, снижению отрицательного заряда ГФ. При морфометрическом исследовании ножковых отростков подоцитов было установлено, что при развитии экспериментальной ХПН на ранних этапах начинается расширение зоны контакта подия с базальной мембраной [10]. Введение ЭДТА контрольным крысам вызывало тенденцию к уменьшению длины контакта [10].

Биохимические исследования показали, что у крыс линии Вистар к 12 нед развивается уремия средней степени тяжести [1].

Сравнительные исследования развития экспериментальной ХПН у крыс генетически разных линий. Для проведения сравнительных исследований развития ХПН на разных линиях крыс использовали нормотензивных крыс линии

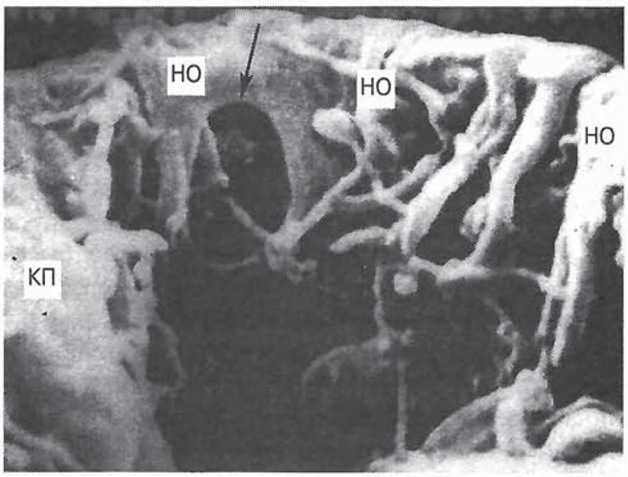

Рис. 4. Капиллярная петля клубочка почки крысы через 12 нед после субтотальной нефрэктомии.

Сканирующая электронная микроскопия. НО — деформированные ножковые отростки подоцитов. Стрелка указывает участок базальной мембраны, лишенный подоцитарного покрытия. Остальные обозначения те же, что на рис. 1. Ув. 15 000.

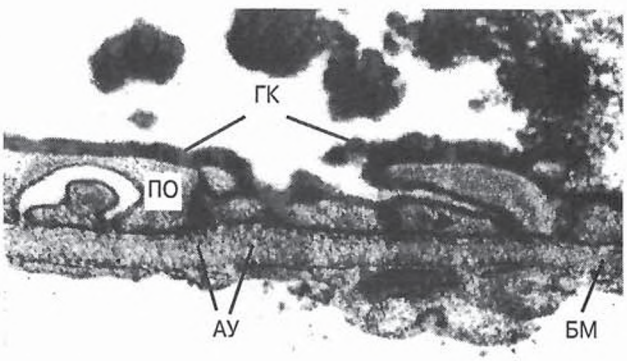

Рис. 5. Гломерулярный фильтр почки крысы через 8 нед после операции субтотальной нефрэктомии

Трансмиссионная электронная микроскопия. БМ — базальная мембрана; АУ — анионные участки; ГК — гликокаликс. Остальные обозначения те же, что на рис. 1. Окраска альциановым синим. Ув. 15 000.

Вистар, гипертензивных крыс сублинии СГК и ВКИ. При этом необходимо отметить, что предварительно у всех крыс в возрасте 8 нед, т. е. к моменту проведения операции, мы исследовали состояние сосудов почки, в частности артериол. По нашим данным, в этом возрасте крысы Вистар имели нормальную сосудистую стенку, крысы линии СГК имели утолщение медии и плазматическое пропитывание стенки. Наиболее интересной находкой было исследование сосудов крыс линии ВКИ, у которых также наблюдались изменения сосудистой стенки по гипертоническому типу, но выраженные в меньшей степени в сравнении с крысами линии СГК. Артериальное давление в этот период у всех крыс было нормальным. Через 12 нед после забоя у всех крыс развилась гипертензия, однако достоверных различий меж-

ду линиями не было [2]. Не было достоверных различий по показателям азотемии между крысами Вистар и ВКИ, однако азотемия была достоверно более выражена у крыс СГК. Крысы этой линии отличались плохой выживаемостью. Морфологические исследования показали, что у крыс СГК на каждом сроке забоя развитие склеротических изменений происходило быстрее, чем у крыс Вистар и ВКИ. На препаратах значительно больше были выражены ранние признаки повреждения эндотелия — фибрин и фибриновые тромбы в капиллярах, а также пролиферация мезангиальных клеток. К 12 нед после операции у них выявлен глобальный склероз клубочков (рис. 6) и выраженные ТИИ в отличие от крыс Вистар и ВКИ, у которых склероз в клубочках был сегментарным и ТИИ выражены в меньшей степени [2].

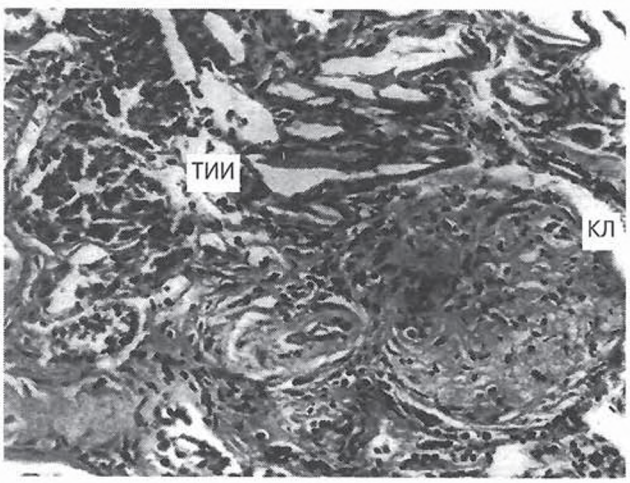

Рис. 6. Микрофотография светооптического препарата почки крысы линии СГК через 12 нед после субтотальной нефрэктомии. КЛ — тотально склерозированный клубочек; ТИИ — тубулоинтерстициальные изменения. Ув. 300.

Исследование внутрисосудистой коагуляции. Поскольку внутрисосудистая коагуляция является одной из ведущих составляющих патогенеза гломерулопатии, мы изучали процессы тромбообразования в капиллярах всех линий крыс, а именно, состояние тромбоцитарного звена гемостаза, оценивая общее количество тромбоцитов и уровень малонового диальдегида (МДА) — конечного продукта метаболизма арахидоновой кислоты. У крыс после субтотальной нефрэктомии в 2,5 раза увеличилось общее число тромбоцитов, соответственно уменьшилось время свертывания крови, в 2 раза возрос уровень МДА в тромбоцитах [12].

С целью получить дополнительные сведения о причинах более быстрого развития патологии у крыс сублинии СГК и раннего появления признаков внутрисосудистой коагуляции мы предприняли попытки исследовать особенности сосудов этой линии крыс в отношении их тромбогенных свойств [13]. У крыс СГК антиагрегационная активность аорты достоверно не отличалась от таковой в группе контрольных животных, хотя в единичном наблюдении была резко повышена, вплоть до полного блокирования агрегации тромбоцитов. В то же время прослеживалась отчетливая тенденция к снижению антикоагуляционной активности почечных артерий в сравнении с контролем. В почечной артерии выявлена тенденция к повышению тромбопластиновой активности [13].

Исследование роли белковой нагрузки. В отдельной серии экспериментов мы исследовали влияние белковой нагрузки на развитие ранних структурных изменений на двух линиях крыс — Вистар и СГК [9]. В качестве маркерных показателей выбрали показатели раннего повреждения капилляров, связанные с повышением внутриклубочкового давления. Определяли фибрин в капиллярах и наличие фибриновых тромбов в капиллярах, а также маркеры, отражающие прохождение через фильтр высокомолекулярных белков: наличие фибрина в проксимальных и дистальных канальцах и такие признаки, как пролиферация мезангиальных клеток и увеличение мезангиального матрикса. Исследования показали, что по всем выбранным показателям при ограничении белка в диете выраженность оценочных показателей достоверно снижена как у нормотензивных, так и спонтанно гипертензивных крыс ($p<0,01$).

Механизмы протективного действия низкобелковой диеты на прогрессирование хронической почечной недостаточности на сегодняшний день окончательно не установлены. Однако уже на ранних стадиях развития ХПН наблюдается подъем уровня мочевины в крови, зависящий от экскреторных возможностей почек и количества потребляемого белка. С целью уточнения влияния повышенной концентрации мочевины на прогрессирование ХПН мы провели сравнительные функционально-морфологические исследования у трех групп крыс линии Вистар после субтотальной нефрэктомии. 1-я группа находилась на диете с белковой нагрузкой, 2-я — на низкобелковой диете с добавлением в рацион мочевины и 3-я — на низкобелковой диете [3]. Показатели концентрации мочевины в сыворотке и протеинурия идентично нарастали у крыс, получавших корм с повышенным содержанием белка, и у животных на низкобелковой диете с добавлением в рацион мочевины, в отличие от крыс, содержавшихся на низкобелковой диете. Гистологические изменения (увеличение размеров клубочков, пролиферация клеток мезангия и увеличение мезангиального

матрикса) были также сходны у животных 1-й и 2-й группы и были более выражены в сравнении с 3-й группой [3].

ОБСУЖДЕНИЕ

Прослеживая развитие структурных и функциональных нарушений при субтотальной нефрэктомии, можно отметить определенные этапы в развитии патологии оставшихся нефронов. Первый (включая первые 2 нед после операции) — нарушение уродинамики и начало компенсаторной гипертрофии клеток. Второй (4 нед) — выраженность (пик) усиления функции. Помимо гипертрофии клеток и признаков активации их деятельности, косвенным подтверждением гиперфильтрации является проведенное на собственном материале простое сопоставление массы оставшихся нефронов (не более 25%) и степени падения суммарной гломерулярной фильтрации (не более 50%). Гистохимические исследования активности ферментов в канальцах почки, выполненные на том же материале [5], показали, что на ранних этапах обнаруживается увеличение активности СДГ как маркера цикла Кребса, определяющего интенсивность клеточного дыхания. Это свидетельствует об усилении окислительных процессов в этот период. Уменьшение активности щелочной фосфатазы в эпителии перитубулярных капилляров свидетельствует о дефекте транспортных систем «эпителий—капилляр», что может в дальнейшем привести к дистрофическим процессам в эпителии.

При условии ограничения белка в диете за этим периодом следует период адаптации, продолжительность жизни у крыс мы наблюдали до 1 года. При забое у таких крыс определялись увеличенные в размерах клубочки с очаговым расширением мезангия, наличием сращений с капсулой. Склероз в клубочках не развивался, за исключением зоны послеоперационного рубца. Биохимические изменения у таких крыс оставались на уровне уремии слабой степени выраженности.

Белковая нагрузка вызывала переход от периода функционального напряжения клеток к периоду угасания функции. Наблюдались дальнейшее падение фильтрации, прогрессирование азотемии и развитие склеротических изменений в клубочках и интерстиции. Гистохимическое исследование ферментов выявило усиление к 8-й неделе активности ЛДГ как свидетельство истощения окислительных процессов и аварийного подключения анаэробного гликолиза. В целом данные гистохимического исследования показали, что вначале возникает метаболическая перестройка нефрона, связанная с усилением экскреции. Однако развивающийся капиллярно-паренхиматозный блок приводит к последующей декомпенсации [5, 6].

Проведенные электронно-микроскопические и электронно-гистохимические исследования показали, что при патологии, пусковым моментом которой являются гемодинамические нарушения, изменение проницаемости гломерулярного фильтра для белка начинается с эндотелия, подоциты вторично реагируют на прохождение белка через БМ. Имеет место нарушение анионных участков БМ и гликокаликса подиев. Гликокаликс главных отростков и ядерной части подоцитов сохраняется и нарушается только в деструктурированных клетках. Капилляры ворот клубочка страдают в первую очередь. В местах деструкции эндотелия и подоцитов полностью отсутствует окрашивание на сиалогликопротеиды [11]. По мере развития ХПН кальций связывается анионными участками, таким образом, способствуя нейтрализации отрицательного заряда БМ [10]. Необходимо подчеркнуть, что как наши эксперименты, так и данные других исследователей [10, 15, 19, 26, 27], показали, что применение веществ, препятствующих проникновению кальция в клетки, дает превентивный эффект в отношении сохранности гликокаликса ножковых отростков подоцитов и сохранению контактов подоцитов с базальной мембраной.

Корреляционный анализ, проведенный на достаточно большом материале (n=87), выявил группы взаимосвязанных параметров на ранних и более поздних этапах развития нефросклероза. На ранних этапах мы нашли (схема 1—3), что увеличение числа мезангиальных клеток имеет связь с процессами, отражающими нарушение барьерной функции гломерулярного фильтра в отношении высокомолекулярных белков, т. е. образованием фибриновых тромбов в капиллярах клубочка и обнаружением фибрина в проксимальных и дистальных канальцах.

Обращает на себя внимание параллелизм между пролиферацией мезангиальных клеток и показателем сращения капиллярных петель с капсулой. Известно, что сращения капиллярных петель с капсулой являются начальным этапом развития сегментарного склероза и, следовательно, очень важным патогномоничным признаком. Субмикроскопическим субстратом для формирования сращений являются участки базальной мембраны, лишенные подоцитарного покрытия и обладающие повышенными адгезивными свойствами. На нашем материале мы наблюдали такие участки при электронно-микроскопическом исследовании (см. рис. 4). Необходимо заметить, что, помимо внутриклубочковых сращений, участки, лишенные подоцитарного покрытия, являются источником попа-

дания вещества базальной мембраны в просвет канальцев и к канальцевым клеткам, в связи с чем запускают цепь межклеточных аутоиммунных реакций, определяющих повреждение интерстиция [19, 25].

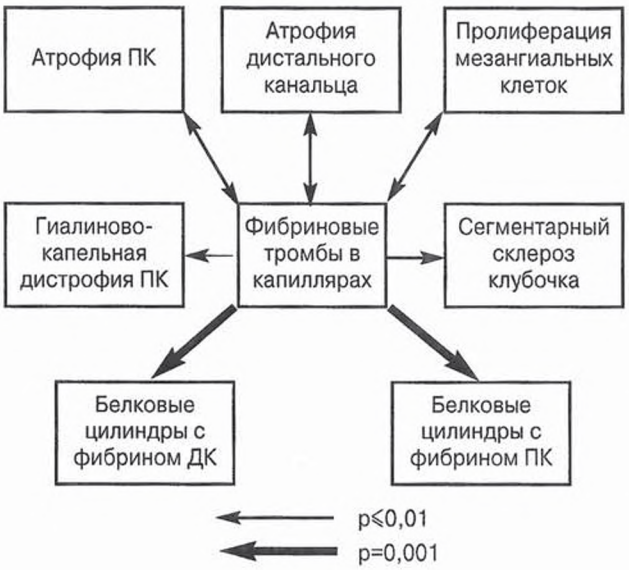

Схема 1. Корреляционные связи между выраженностью образования фибриновых тромбов в капиллярах и другими параметрами.

Здесь и на схемах 3–6: ПК — проксимальный каналец; ДК — дистальный каналец.

Схема 2. Корреляционные связи между выраженностью сращения капилляров с капсулой и другими параметрами.

Наши попытки выявить взаимосвязанные процессы канальцев и гломерул показали, что атрофия проксимального канальца связана преимущественно с более ранними клубочковыми изменениями (схема 4), в то время как атрофия дистального канальца — с глобальным склерозом клубочков и диффузным склерозом стромы (схема 5, 6).

Известно, что роль белковой нагрузки в развитии гиперфильтрации окончательно не ясна. Тем более в исследовании этого механизма представляют интерес сравнительные исследования белковой нагрузки с нагрузкой мочевиной относительно малобелковой диеты [3]. Наши исследования показали, что добавление в пищу мочевины нивелирует положительный эффект низкобелковой диеты. Считается, что ограничение белка в диете приводит к снижению скорости клубочковой фильтрации, способствуя уменьшению гибельной для оставшихся клубочков гиперфильтрации [17, 19].

Показано, что одним из механизмов возникновения гиперфильтрации является подавление активности канальцево-клубочкового механизма обратной связи. Наши данные позволяют предположить, что влияние изменений концентраций белка или аминокислот в крови на внутриклубочковую гиперфильтрацию реализуется изменениями уровня конечного продукта метаболизма протеинов — мочевины. Последняя, как осмотически активное вещество, при повышении ее концентрации в ультрафильтрате способна изменить состав канальцевой жидкости и процессы транспорта веществ в различных уча-

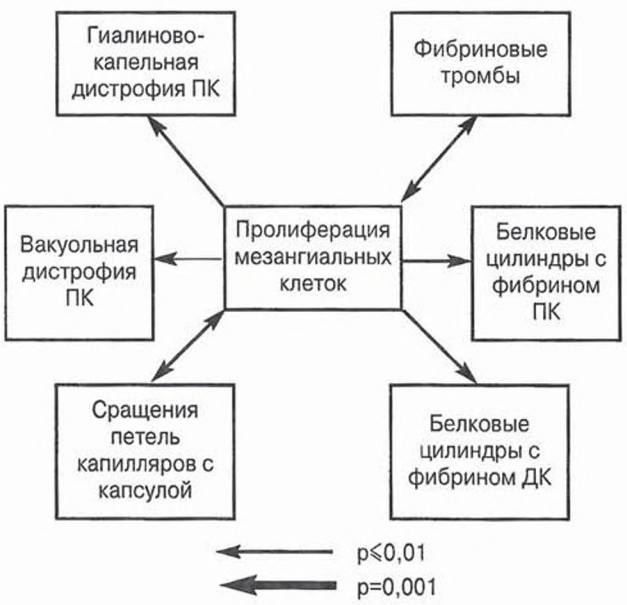

Схема 3. Корреляционные связи между выраженностью пролиферации мезангиальных клеток и другими параметрами.

стках нефрона, в том числе и в области плотного пятна. Таким образом, подобно глюкозе и маннитолу, мочевина могла бы трансформировать внутриклубочковую гемодинамику путем подавления активности канальцево-клубочкового механизма обратной связи. Несомненно, что это лишь гипотеза, которая требует проверки методами микропункции и микроперфузии.

Сравнительные исследования развития ХПН на генетически разных линиях крыс показали роль сосудистых изменений в развитии патологии в результате воздействия гемодинамических факторов. Как следует из литературных источников, у гипертензивных крыс разных линий по сравнению с нормотензивными, в силу более высокого сосудистого тонуса, повышена резистивность приводящей артериолы, в связи с чем почка этих животных оказывается защищенной от гиперперфузии, и у таких крыс значительно медленнее развиваются процессы повреждения нефронов после субтотальной нефрэктомии [14, 15, 21, 23]. Возможно, что крысы сублинии ВКИ, хотя и имели в возрасте 8 нед начальную степень изменения сосудистой стенки по гипертоническому типу в виде плазматического пропитывания (т. е. нарушение барьерной функции в отношении белков плазмы), вероятно, сохранили свойственный гипертензивным крысам тонус приводящей артериолы, что могло обусловить их устойчивость к повреждению капилляров клубочка при субтотальной резекции почки. Это предположение в известной мере подтверждается эксперименальными исследованиями, выявившими особенности реактивности сосудистой стенки крыс ВКИ в отношении некоторых сосудистых веществ по сравнению с крысами линии Вистар [7]. Однако крысы сублинии СГК, которой мы располагали, не развивали АД более высокое, чем крысы Вистар или ВКИ, хотя к возрасту 8 нед обнаруживали признаки повышения проницаемости для плазменных белков, выраженное в значительно большей степени, чем у крыс ВКИ. Поэтому мы высказали предположение, что кры-

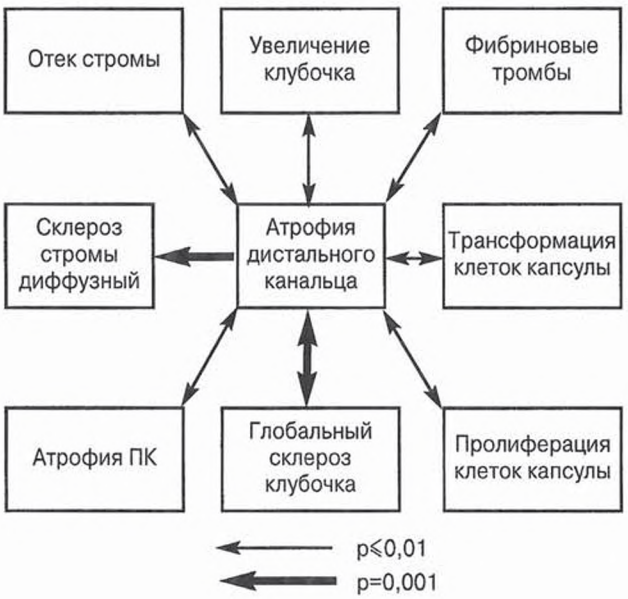

Схема 5. Корреляционные связи между выраженностью атрофии дистальных канальцев и другими параметрами.

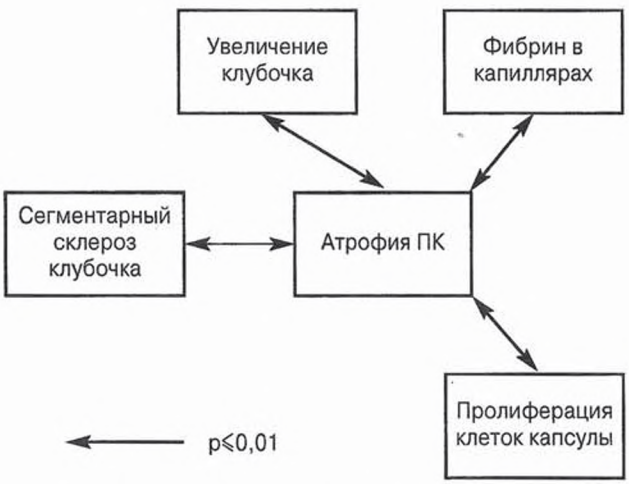

Схема 4. Корреляционные связи между выраженностью атрофии проксимальных канальцев и другими параметрами.

Схема 6. Корреляционные связи между выраженностью глобального склероза клубочков и другими параметрами.

сы сублинии СГК имели относительно сниженную резистивность приводящей артериолы и, таким образом, не имели защиты нефронов от гиперперфузии. Косвенным подтверждением этого предположения явился хороший результат, полученный нами при применении ингибитора ангиотензин-конвертирующего фермента (эналаприл), который, как известно, снижает тонус отводящей артериолы, уменьшая тем самым внутриклубочковое давление, и в нашем эксперименте нивелировал повреждающий эффект белковой нагрузки [8, 9, 23].

Однако это лишь одна вероятная причина, другая, возможно, заключается в состоянии тромбоцитарного звена всех крыс, подвергнутых нефрэктомии, и особенностях атромбогенных свойств сосудистой стенки крыс СГК. Мы получили данные, свидетельствующие о повышении коагуляционной потенции крови у крыс всех линий, обусловленные изменениями тромбоцитарного звена гемостаза как в количественном, так и качественном отношении (повышение уровня МДА в неактивированных in vitro тромбоцитах), что указывает на их активирование в сосудистом русле. Увеличение количества тромбоцитов в крови и их внутрисосудистая активация — условия для микротромбоза, развитие которого в микроциркуляторном русле оставшейся почки является одним из существенных факторов формирования нефросклероза [13, 21, 23, 24]. Что касается экспериментов с крысами СГК, можно полагать, что особенности сосудистой стенки крыс СГК свидетельствуют о снижении ее атромбогенных свойств и повышении ее тромбогенного потенциала, что является фактором, способствующим тромбообразованию и, по-видимому, лежит в основе более быстрого развития микротромбоза в капиллярах клубочков СГК с последующим развитием нефросклероза и азотемии.

Кроме эналаприла, мы исследовали другие препараты. На наш взгляд, наиболее интересные результаты получены при применении фуросемида [4]. В сериях экспериментов, проведенных на ранних этапах (6 нед) после операции, мы получили более выразительный положительный эффект от применения малых доз препарата не по показателям азотемии, а по анализу морфологических параметров. Применение малых доз фуросемида (20 мг/кг) оказало отчетливое превентивное воздействие в отношении развития ранних структурных клубочковых изменений. Большие дозы препарата (60 мг/кг) не давали положительный эффект и детальный гистологический анализ позволил выявить повреждающее действие, оказываемое препаратом на эпителий дистальных канальцев. В данном случае, как и в случаях с апробацией других медикаментозных препаратов, ограничение исследований только показателями азотемии дало бы несравнимо более бедную информацию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Субтотальная нефрэктомия является удобной и перспективной моделью для исследования неиммунных механизмов повреждения оставшихся нефронов и отработки методов коррекции.

2. В развитии структурных и функциональных изменений можно выделить определенные этапы от периода усиления функции клеток к периоду угасания.

3. Морфофункциональные особенности сосудистой стенки крыс разных линий обусловливают особенности развития нефросклероза.

4. Можно полагать, что в основе влияния содержания белка в диете на внутриклубочковую гемодинамику лежит концентрация конечного продукта метаболизма протеинов — мочевины в канальцевом ультрафильтрате, в частности, протекающем в области плотного пятна.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Барабанова В.В., Титова В.А., Акимова С.Л. и др. Экспериментальная ХПН и функциональная активность воротной вены как отражение метаболических нарушений // Деп. ВИНИТИ. № 2173-В91 от 26.06.91.

2. Барабанова В.В., Титова В.А., Мирошниченко Е.Л. Развитие ХПН у гипертензивных крыс // Бюл. экспер. биол.—1993.—Т. 113, № 6.—С. 666–668.

3. Есаян А.М., Титова В.А., Шишкина Л.И. и др. Влияние мочевины на течение экспериментальной уремии у крыс с субтотальной нефрэктомией // Пат. физиол.—1997.—№ 2.—С. 39–41.

4. Есаян А.М., Барабанова В.В., Титова В.А. и др. Влияние фуросемида на течение экспериментальной хронической почечной недостаточности // Нефрология.—1999.—Т. 3, № 2.—С. 73–77.

5. Клечиков В.З., Береснева О.Н., Выриков К.А. и др. Сравнительный структурный анализ печени и почек при экспериментальной хронической почечной недостаточности // Бюл. экспер. биол.—1993.—Т. 113, № 5.—С. 546–548.

6. Серов В.В., Яргин С.В. Морфо- и патогенез нефросклероза: клинико-лабораторный анализ // Тер. арх.—1986.—Т. 58, № 8.—С. 4–9.

7. Тимошенко Т.Е., Барабанова В.В., Белоусова Е.И. и др. Роль структурно-функциональных особенностей сосудистой стенки в механизме действия эритропоэтина на активность гладкомышечных клеток // Физиол. журн.—1993.—Т. 79, № 7.—С. 115–117.

8. Титова В.А., Есаян А.М., Шишкина Л.И., Барабанова В.В. Эффект применения эналаприла при экспериментальной ХПН у спонтанно гипертензивных крыс // Бюл. экспер. биол.—1993.—Т. 113, № 8.—С. 171–173.

9. Титова В.А., Акимова С.Л., Козлов В.В. Влияние белковой нагрузки на развитие ранних структурных изменений клубочков при экспериментальном уменьшении массы действующих нефронов // Съезд нефрологов России, 1-й: Материалы.—Казань, 1994.—С. 52.

10. Титова В.А., Павленко И.Н., Балакина А.Ю. и др. Исследование морфометрических параметров ножковых отростков подоцитов при нарушении кальциевого обмена // Бюл. экспер. биол.—1999.—Т. 127, № 3.—С. 347–350.

11. Титова В.А., Томилин Н.В., Тимошенко Т.Е., Барабанова В.В. Оценка трансэндотелиальной проницаемости сосудов при экспериментальной хронической почечной недостаточности // Нефрология.—2000.—Т. 4, № 3.—С. 85–90.

12. Шестакова С.А., Барабанова В.В., Титова В.А. и др. Состояние тромбоцитарного звена гемостаза при экспериментальной ХПН // Ежегодный Санкт-Петербургский нефрологический семинар, 4-й: Материалы.—1996.—С. 257.

13. Шестакова С.А., Титова В.А., Барабанова В.В. Некоторые свойства артериальных сосудов почки у спонтанно гипертензивных крыс (SHR) // Конференция нефрологов Северо-Запада России, 5-я: Материалы.—СПб.,1997.—С. 257.

14. Bidani A.K., Griffin K.A., Plott W., Schwartz M.M. Genetic predisposition to hypertension and microvascular injury in the remnant kidneys model // J. Lab. Clin. Med.—1993.—Vol. 122, № 3.—P. 284–91.

15. Eberst M.E., Lee R., Bercowitz M.D., et al. Hemostasis in renal disease: Pathophysiology and management // J. of Med.—1994.—Vol. 96.—P. 168–179.

16. Hamaguchi A., Kim S., Wanibuchi H., Iwao H. Angiotensin 11 and calcium blockers prevent glomerular phenotypic changes in remnant kidneys model // Am. Soc. Nephr.—1996.—Vol. 7, № 5.—P. 687–693.

17. Harris D.C., Chan L., Schrier R.W. Remnant kidney hypermetabolism and progression of chronic renal failure// Am. J. Physiol.—1988.—Vol. 254.—2 Pt2.—P. 267–276.

18. Jackson B., Debrevi L., Cubela R. et al. Preservation of renal function in the rat remnant kidney model of chronic renal failure by blood pressure reduction // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.—1986.—Vol. 13, № 4.—P. 318–323.

19. Jacobson H.R. Chronic renal failure: pathophysiology // Lancet.—1991.—Vol. 338, № 17.—P. 419–427.

20. Jao W., Horn T. Scanning electron microscopy of immune complexes in membranous glomerulopathy // Am. J. Kidney Dis.—1986.—Vol. 7.—P. 35–40.

21. Lee L.K., Meyer T.W., Pollock A.S. Lovett D.H. Endothelial cell injury initiates glomerular sclerosis in the rat remnant kidney // J. Clin. Invest.—1995.—Vol. 96, № 2.—P. 953–964.

22. Luft J.H. Electron microscopy of cell extraneous coats as revealed by ruthenium red staining // J. cell Biol.—1964.—Vol. 23.—P. 54A–55A.

23. Olson T.L., Heptinstall R.H. Biology of disease. Nonimmunologic mechanisms of glomerular jnjury // Lab. Invest.—1988.—Vol. 59, № 5.—P. 564–579.

24. Savage C.O.S. The biology of the glomerulus: Endothelial cells // Kidney Intern.—1994.—Vol. 45.—P. 314–319.

25. Scwartz M.M., Bidani A.K. Role of glomerular epithelial cell injury in the pathogenesis of glomerular scarring in the rat remnant kidney model // Am. J. Physiol.—1993.—Vol. 265 (3 pt2).—P. 391–398.

26. Tarif N., Bakris G.L. Preservation of renal function: the spectrum of effects by calcium-channel blockers // Nephrol. Dial. Transplant.—1997.—Vol. 12, № 11.—P. 2244–2250.

27. Yamaguchi H., Liou H.T., Morisada M., Sakaguchi H. Conjugation of cationised ferritin in renal glomeruli after administration of Na_2EDTA // Exp. Pathol.—1988.—Vol. 34, № 2.—P. 85–88.

Поступила в редакцию 15.11.2000 г.