

© М.А.Акименко, С.С.Тодоров, Т.С.Колмакова, 2017
УДК 577.175.72 : 612.46
doi: 10.24884/1561-6274-2017-21-5-71-75

М.А. Акименко¹, С.С. Тодоров², Т.С. Колмакова³

ДИНАМИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ АДАПТАЦИОННО-КОМПЕНСАТОРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТКАНИ ПОЧКИ ПРИ ОБСТРУКЦИИ МОЧЕТОЧНИКОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹Кафедра медицинской биологии и генетики; ²отдел молекулярно-биологических и оптических методов исследования; ³кафедра медицинской биологии и генетики Ростовского государственного медицинского университета, г. Ростов-на Дону, Россия

M.A. Akimenko¹, S.S. Todorov², T.S. Kolmakova³

DYNAMICS OF MORPHOLOGICAL ADAPTATION-COMPENSATORY CHANGES IN KIDNEY TISSUE DURING URETERAL OBSTRUCTION IN THE EXPERIMENT

¹Department of Medical Biology and Genetics; ²Morphological department and department of molecular biological and optical research methods; ³Department of Medical Biology and Genetics Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

РЕФЕРАТ

Целью исследования явилось сравнительное изучение морфологических изменений в ткани почки при механической обструкции мочеточника в эксперименте в сроки 7, 14, 21 сут. Изучение динамики морфологических изменений почки показало, что в первые 7 сут после обструкции имеют место компенсаторные реакции со стороны канальцевого аппарата мозгового слоя почек и минимальное развитие межтубулярного фиброза. В последующие сроки (14–21 сут) компенсаторные явления в клетках эпителия канальцев подвергаются срыву ауторегуляторных механизмов адаптации, что выражается в явлениях белковой, гидropической дистрофии, атрофии, кистозной трансформации клеток эпителия канальцев мозгового и коркового слоев, а также появлением крупных зон интерстициального фиброза стромы. Полученные данные позволяют считать, что оптимальным сроком выполнения хирургических вмешательств при обструктивной уропатии является первая неделя от начала развития патологического процесса, так как это позволит предупредить дальнейшее развитие изменений канальцевого аппарата и склероза почечной ткани.

Ключевые слова: эксперимент, обструктивная уропатия, морфологические изменения почки, дистрофические изменения канальцев, компенсаторные реакции.

ABSTRACT

THE AIM: the comparative study of morphological changes in kidney tissue with mechanical ureteral obstruction in the experiment at the time of 7, 14, 21 days. **Materials and methods.** The study of the dynamics of the morphological changes in the kidney showed that in the first 7 days after obstruction, there are compensatory reactions from the tubular apparatus of the medulla of the kidneys and minimal development of interstitial fibrosis. **Results.** In the subsequent terms (14–21 days), compensatory phenomena in the epithelial cells of the tubules are disrupted autoregulatory mechanisms of adaptation, which is manifested in the phenomena of protein, hydrops dystrophy, atrophy, cystic transformation of epithelial cells of the tubules of the cortex and medulla layers, and the appearance of large zones of interstitial fibrosis of the stroma. **CONCLUSION.** Obtained data make it possible to consider that the optimal period for performing surgical interventions, with obstructive uropathy, is the first week from the beginning of the development of the pathological process since this will prevent further development of dystrophic and atrophic changes in the tubular apparatus and sclerosis of the renal tissue.

Keywords: experiment, obstructive uropathy, morphological changes of the kidney, dystrophic changes in tubules, compensatory reactions.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно официальным данным, на сегодняшний день более 15 млн россиян страдают хронической болезнью почек (ХБП) разных стадий. Масштабы распространения и тяжелые социальные

последствия данного заболевания, по оценкам ВОЗ и ООН, уже сегодня могут поставить ее в один ряд с заболеваниями сердца, легких, раком и сахарным диабетом. Вопрос о механизмах прогрессирования ХБП является одним из центральных в современной нефрологии [1]. У 20% пациентов имеется патология, связанная с обструкцией мочевыводящих путей. Обструктивные уропатии (ОУ) объединяют

Тодоров С.С. 344022, Россия, г. Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., д. 29. Ростовский государственный медицинский университет. Тел.: 8 (918) 508-37-89, E-mail: sertodorov@gmail.com

морфологические и функциональные изменения мочевой системы, обусловленные препятствием (полным или частичным) для оттока мочи на любом уровне мочевых путей – от мочеиспускательного канала до почечных канальцев [2]. Серьезной проблемой ОУ является длительный бессимптомный период. Ключевыми факторами повреждения почки при обструкции считают: повышение давления в полостной системе почек, внутри почечных канальцев и локальную ишемию. При длительной обструкции, наряду с видимым расширением чашечек и лоханки, возникают необратимые структурные изменения – атрофия, воспаление, фиброз с потерей почечных функций [3]. Большинство обструкций поддаются коррекции, однако несвоевременная диагностика и, как следствие, запоздалое лечение могут привести к необратимым патологическим изменениям почки, заканчивающимся хронической болезнью почек (ХБП) и гидронефрозом [4]. Зачастую функциональные результаты оперативного лечения обструкции мочевых путей с трудом можно признать удовлетворительными ввиду тактических и технических ошибок, а также изменения структуры почек [5]. Восстановление функции после устранения причин заболевания (например удаление конкремента) зависит от сроков, тяжести и продолжительности обструкции [6]. Несмотря на успехи, достигнутые в понимании механизмов повреждения почек, базовые биологические процессы, лежащие в основе адаптационных изменений, которые обеспечивают длительное сохранение гомеостаза, изучены недостаточно, а данные по этой проблеме противоречивы [7].

В литературе на примерах отдельных экспериментальных работ обсуждаются вопросы о динамике морфологических изменений в первые дни развития ОУ, однако отсутствуют подробные сравнительные данные о морфологических, гистохимических изменениях канальцевого аппарата мозгового и коркового слоев, клубочков, сосудов, стромы почек в более поздние сроки развития патологического процесса [8–13]. Несомненно, данные морфологического исследования в различные периоды возникновения ОУ могут стать основой для понимания адаптационно-компенсаторных способностей почки и помогут установить время возникновения ишемических, некробиотических, некротических процессов в них, что позволит дать объективную клиническую оценку функциональному состоянию нефрона.

Исходя из этого, целью нашего исследования явилось сравнительное изучение морфологических изменений в ткани почки при механической

обструкции мочеточника в эксперименте в сроки 7, 14, 21 сут.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнялась на базе отдела молекулярно-биологических и оптических методов исследования ФГБОУ ВО РостГМУ. Содержание, питание, уход за животными и выведение из эксперимента осуществляется в соответствии с требованиями «Хельсинкской декларации» (2000) и «Директивы 2010/63/EU Европейского парламента о совете Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях» (2010). Исследование разрешено локальным независимым этическим комитетом ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России (№21/15 от 10.12.2015 года). Экспериментальная модель ОУ на кроликах самцах была сделана по методике E. Giamarellors-Bourbalis и соавт. [14]. Всех животных содержали при исходных условиях: температура (20–23 °C), влажность, освещение (с 12/12-часовым циклом света/темноты), а также рациона питания. Экспериментальные животные имели свободный доступ к пище и воде, а также в течение недели адаптировались к новой окружающей среде перед экспериментом. Первым этапом животных подвергли седации раствором золетила внутримышечно (15 мг/кг), далее в краевую вену уха внутривенно вводили 1% водную эмульсию пропофола (дипривана) (5,0–7,5 мг/кг). Через верхнесрединный абдоминальный разрез длиной 4,0 см вскрывали брюшную полость. Кишечник перемещали вправо. Левый мочеточник после визуализации на 2,5 см дистальнее лоханки окружали нитью 3/0 и подтягивали к передней брюшной стенке. Оба конца нити проводили через переднюю брюшную стенку наружу и завязывали на коже. Экспериментальная модель механической обструкции воспроизводилась на 9 взрослых кроликах (самцы в возрасте 3,5 мес, масса тела 2,4–2,75 кг), которые были разделены на 3 группы по 3 животных в каждой: 1-я группа – механическая обструкция сроком 7 дней, 2-я группа – механическая обструкция сроком 14 дней, 3-я группа – механическая обструкция сроком 21 день. Обструкция левого мочеточника сохранялась в течение указанных сроков эксперимента. После введения в эксперимент животных содержали в тех же условиях. По протоколу экспериментального исследования животных умерщвляли на 7-е, 14-е и 21-е сутки. Вскрытие проводили в операционной в асептических условиях. Полученные образцы фиксировались в 10% забуференном растворе формалина (10% NBF) с

дальнейшей гистологической проводкой, заключением в парафиновые блоки, микротомией и окраской препаратов по общепринятым методикам. Серийные срезы тканевых образцов окрашивали гематоксилином–эозином, по классическому протоколу, использовали специальные гистохимические окраски: P.A.S.M. метенамин-серебро, PAS-реакция по Хочкиссу.

Для оценки результатов исследования использовали пакет прикладных статистических программ «Statistica 7.0» («StatSoft», США). Результаты представлены в виде среднего арифметического \pm ошибка средней. Статистическую значимость различий двух средних определяли с помощью t-критерия Стьюдента; частот – χ^2 -критерия Пирсона. Оценку силы взаимосвязи между количественными признаками проводили с помощью коэффициента корреляции (r) Пирсона. Нулевую статистическую гипотезу об отсутствии различий и связей отвергали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гистологическое исследование позволило выявить определенные закономерности развития ОУ в динамике. Наибольшие изменения были отмечены со стороны канальцевой системы почек.

Через 7 дней в ткани почки имелись отдельные очаги коагуляционного некроза эпителия извитых канальцев без перифокальной реактивной воспалительной инфильтрации (рис.1). Обращало внимание, что просветы дистальных канальцев были неравномерно сужены за счет отека стромы. В отдельных участках отмечалась селективная умеренно выраженная эктазия проксимальных и дистальных канальцев без признаков атрофии клеток эпителия. В мозговом веществе почки отмечались умеренная эктазия дистальных канальцев без признаков атрофии эпителиоцитов, развитие межуточного сетчатого фиброза стромы. В ядрах эпителиоцитов дистальных канальцев имелась гипохромия ядер, ядрышек, что свидетельствовало о наличии выраженной дистрофии (рис. 2). В то же время, в клетках эпителия проксимальных и извитых канальцев ядрышки хорошо визуализировались, что указывало на сохранение их функциональной фильтрационно-реабсорбционной активности.

Стенки артерий, артериол и венул были сохранены, имели аргирофильные волокна, без признаков некроза и повреждения. Клубочки почек были отечные, умеренно полнокровные, без признаков воспалительной клеточной реакции в них.

В последующие 14 сут нарастали дистрофи-

ческие, некробиотические изменения эпителия дистальных канальцев почек с развитием межуточного сетчатого фиброза стромы вокруг них. Отдельные дистальные канальцы были неравномерно расширены, имели признаки кистозной трансформации, при этом в них отмечалась атрофия клеток, в базальных мембранах накапливались кислые мукополисахариды (рис. 3, 4). Окраска метенамом-серебром выявляла значительную гипохромия ядер и ядрышек с участками ахромии эпителиоцитов дистальных канальцев почки, что указывало на необратимые структурно-функциональные изменения данных структур. Проксимальные, извитые канальцы находились в состоянии белковой, гидропической дистрофии, отдельные из которых были кистозно расширены. Сосуды капиллярного, артериального, венозного типа, клубочки были сохранены, имели признаки отека, незначительного накопления кислых мукополисахаридов.

Через 21 день в почках, подвергнутых обструкции, развивались выраженные дистрофические, атрофические, склеротические изменения. В мозговом слое наблюдалась кистозная трансформация дистальных канальцев с резкой атрофией, гипохромией ядер эпителиоцитов, отмечалось развитие крупных участков межуточного фиброза с формированием тонких и толстых коллагеновых волокон. Канальцевый аппарат коркового слоя (проксимальные, извитые канальцы) претерпевал существенные некробиотические, дистрофические изменения, вплоть до развития кистозной трансформации (рис. 5, 6). Существенных морфологических изменений со стороны сосудов артериального, капиллярного, венозного типов не выявлялось, в их стенках имелась лишь незначительная инфильтрация кислыми мукополисахаридами.

ОБСУЖДЕНИЕ

На экспериментальной модели ОУ в различные по длительности периоды обструкции нам удалось выявить определенные закономерности.

В первые 7 сут, после перевязки мочеточника имеют место компенсаторные реакции со стороны канальцевого аппарата мозгового слоя почек без существенного их поражения, с минимальным развитием межуточного фиброза. В последующие сроки (14–21-е сутки) компенсаторные явления в клетках эпителия канальцев подвергаются срыву ауторегуляторных механизмов адаптации, что выражается в явлениях выраженной белковой, гидропической дистрофии, атрофии, кистозной трансформации клеток эпителия канальцев моз-

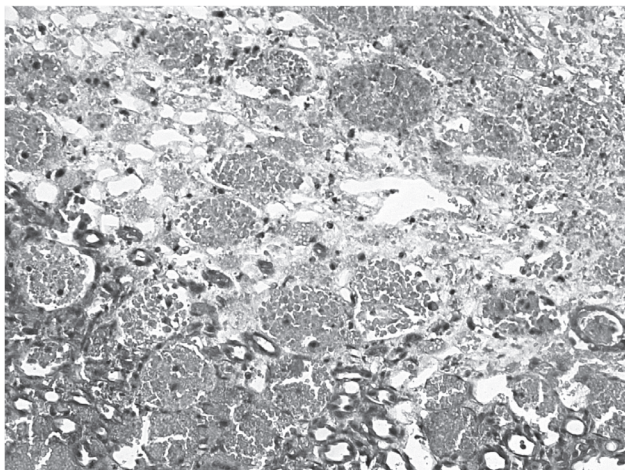


Рис. 1. Очаги коагуляционного некроза эпителия извитых канальцев без перифокальной реактивной воспалительной инфильтрации (обструкция мочеточника 7 сут). Окраска гематоксилином–эозином. Ув. 200.

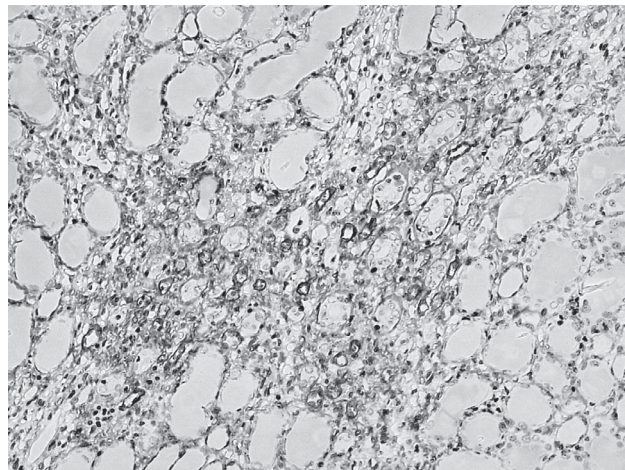


Рис. 2. Очаги межуточного фиброза в мозговом слое, умеренная эктазия дистальных канальцев почки (обструкция мочеточника 7 сут). Окраска метенамином–серебром. Ув. 200.

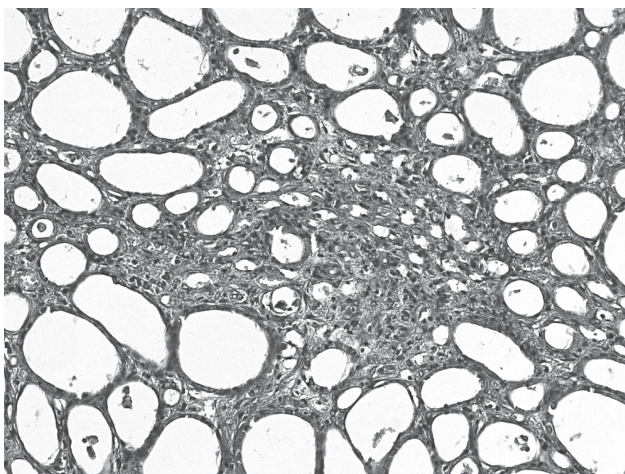


Рис. 3. Межуточный фиброз стромы мозгового слоя, кистозная трансформация дистальных канальцев почки (обструкция мочеточника 14 сут). Окраска гематоксилином–эозином. Ув. 200.

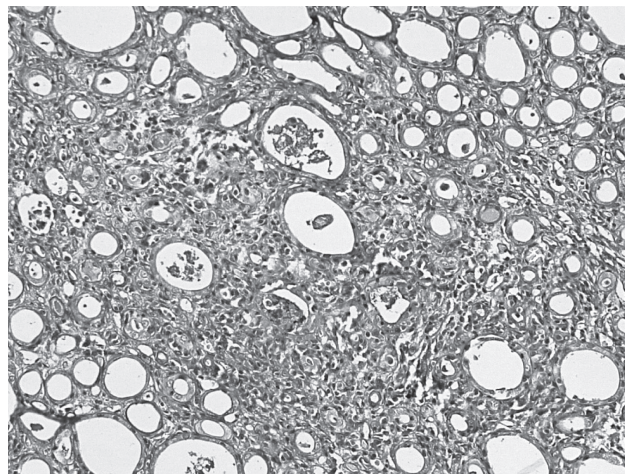


Рис. 4. Кистозная трансформация с атрофией эпителиоцитов дистальных канальцев, накопление кислых мукополисахаридов в базальных мембранах (14 сут). PAS-реакция по Хоккису. Ув. 200.

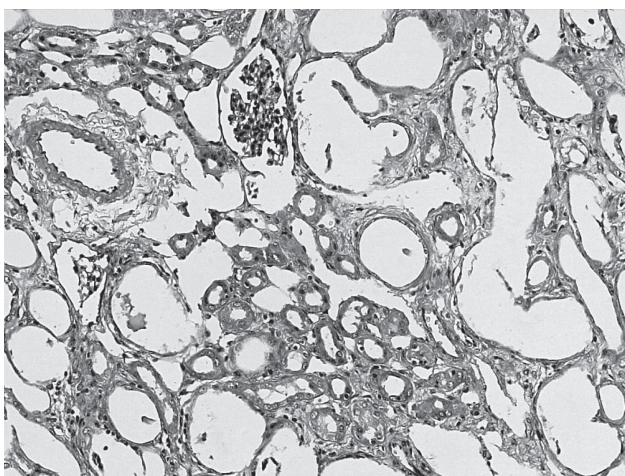


Рис. 5. Кистозная трансформация дистальных канальцев с резкой атрофией эпителиоцитов (обструкция мочеточника 21 сут). Окраска гематоксилином–эозином. Ув. 200.

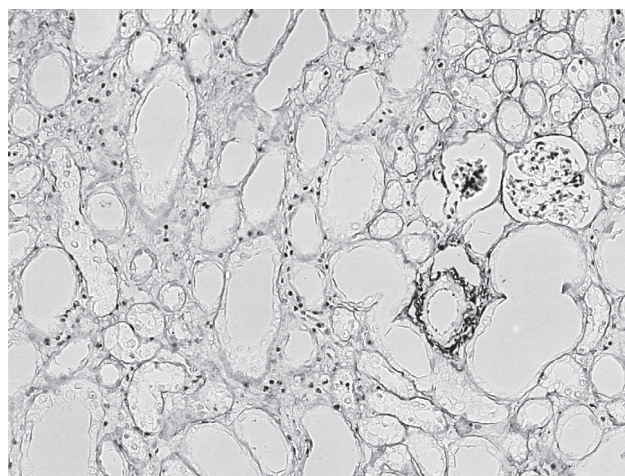


Рис. 6. Кистозная трансформация, выраженные дистрофические, некробиотические изменения проксимальных канальцев почки (обструкция мочеточника 21 сут). Окраска метенамином–серебром. Ув. 100.

гового и коркового слоев, а также появлением крупных зон интерстициального (межуточного) фиброза стромы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные позволяют считать, что наиболее оптимальным сроком для выполнения хирургических вмешательств на почках при ОУ следует считать первую неделю развития острой обструкции мочевыводящих путей, что может позволить предупредить развитие вторичных дистрофических – атрофических изменений канальцевого аппарата и последующего склероза почечной ткани.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК:

1. Смирнов АВ, Румянцев АШ, Добронравов ВА, Каюков ИГ. XXI век – время интегративной нефрологии. *Нефрология* 2015; 19(2):22-26 [Smirnov AV, Rumyantsev AS, Dobronravov VA, Kayukov IG. XXI century – the time of integrative nephrology. *Nephrology (Saint-Petersburg)*. 2015; 19(2):22-26. (In Russ.)]
2. Truong LD, Gaber L, Eknoyan G. Obstructive uropathy. *Experimental Models for Renal Diseases: Pathogenesis and Diagnosis. Contrib Nephrol* 2011; 169: 311-326. doi: 10.1159/000314578
3. Новикова МВ, Егорова ГГ. Морфологическая характеристика почек у кошек при гидронефрозе в эксперименте. *Аграрный вестн Урала* 2010; 5 (71):64-66 [Novikova MV, Egorova GG. Morfologicheskaja harakteristika pochek u koshek pri gidronefroze v jeksperimente. *Agrarnyj vestnik Urala* 2010; 5 (71):64-66]
4. Акименко МА, Синельник ЕА, Потапов ЕВ, Пасечник ДГ. Морфологические особенности экспериментальной обструктивной уропатии. 3-я итоговая научная сессия молодых учёных РостГМУ 2016; (3):77-79 [Akimenko MA, Sinelnik EA, Potapov EV, Pasechnik DG. Morfologicheskie osobennosti jeksperimental'noj obstruktivnoj uropatii. 3-ja itogovaja nauchnaja sessija molodyh uchjonyh RostGMU 2016; (3):77-79]
5. Оношко ВФ, Гольдберг ОА. Сравнительные морфологические особенности клинического и экспериментального гидронефроза. *Медицинский вестник Башкортостана* 2011; 6(2):113-116. [Onopko VF, Goldberg OA. Sravnitel'nye morfologicheskie osobennosti klinicheskogo i jeksperimental'nogo gidronefroza. *Medicinskij vestnik Bashkortostana* 2011; 6(2):113-116]
6. Chevalier RL. Chronic partial ureteral obstruction and the developing kidney. *Pediatr Radiol* 2008; 38 (1): 35-40. doi: 10.1007/s00247-007-0585-z
7. Vincent IS, Okusa MD. Biology of Renal Recovery: Molecules, Mechanisms and Pathways. *Nephron Clin Pract* 2014; 127 (0): 10-14. doi: 10.1159/000363714
8. Lima MLD, Bertti R, Moro JC et al. 99m Tc-DTPA Study to Validate an Experimental Model of Ureteral Obstruction in Rabbits: Preliminary Results. *Advances in Urology* 2013; 2013: pp. doi: 10.1155/2013/929620
9. Yazıcı M, Celebi S, Kuzdan Ö et al. Current radiological techniques used to evaluate unilateral partial ureteral obstruction: an experimental rabbit study. *International Urology and Nephrology* 2015; 47(7): 1045–1050. doi: 10.1007/s11255-015-0998-9
10. Li WQ, Dong ZQ, Zhou XB et al. Renovascular morphological changes in a rabbit model of hydronephrosis. *Journal of*

Huazhong University of Science and Technology 2014; 34(4): 575–581. doi: 10.1007/s11596-014-1318-9

11. Peters CA. Animal models of fetal renal disease. *Prenatal Diagnosis* 2001; 21(11): 917–923. doi:10.1002/pd.211

12. Березинец ОЛ, Россоловский АН, Блюмберг БИ. Механизмы прогрессирования тубулоинтерстициальных изменений при мочекаменной болезни. *Бюллетень медицинских Интернет-конференций* 2014; 4(1):87-88 [Berezinets OL, Rossolovsky AN, Blumberg BI. Mehanizmy progressirovanija tubulointersticijal'nyh izmenenij pri mochekamennoj bolezni. *Bjulleten' medicinskih Internet-konferencij* 2014; 4(1):87-88]

13. Chevalier RL, Forbes MS, Thornhill BA. Formation of atubular glomeruli in the developing kidney following chronic urinary tract obstruction. *Pediatric Nephrology* 2011; 26 (9): 1381–1385. doi: 10.1007/s00467-010-1748-y

14. Giamarellos-Bourboulis EJ, Adamis T, Laoutaris G et al. Immunomodulatory clarithromycin treatment of experimental sepsis and acute pyelonephritis caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2004; 48 (1): 93-99. doi: 10.1128/AAC.48.1.93-99.2004

Сведения об авторах:

Акименко Марина Анатольевна
344022, Россия, г. Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., д. 29.
Ростовский государственный медицинский университет, кафедра медицинской биологии и генетики. Тел.: 8 (928) 187-79-84, E-mail: akimenkoma@yandex.ru

Marina A. Akimenko
Affiliation: 344022, Russia, Rostov-on-Don, Nahichevansky av., 29. Rostov State Medical University, Department of Medical Biology and Genetics. Phone: 8 (928) 187-79-84, E-mail: akimenkoma@yandex.ru

Тодоров Сергей Сергеевич, д-р мед. наук
344022, Россия, г. Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., д. 29.
Ростовский государственный медицинский университет, руководитель морфологического отдела и отдела молекулярно-биологических и оптических методов исследования. Тел.: 8 (918) 508-37-89, E-mail: sertodorov@gmail.com

Sergey S. Todorov M.D., PhD, DMedSci
Affiliation: 344022, Russia, Rostov-on-Don, Nahichevansky av., 29. Rostov State Medical University, head of the morphological department and department of molecular biological and optical methods of research. Phone: 8 (918) 508-37-89, E-mail: sertodorov@gmail.com

Колмакова Татьяна Сергеевна, д-р биол. наук
344022, Россия, г. Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., д. 29.
Ростовский государственный медицинский университет, кафедра медицинской биологии и генетики. Тел.: 8 (903) 470-28-63, E-mail: tat_kolmakova@mail.ru

Associate professor Tatiana S. Kolmakova PhD, DBiolSci
Affiliation: 344022, Russia, Rostov-on-Don, Nahichevansky av., 29. Rostov State Medical University, Department of Medical Biology and Genetics, head. Phone: 8 (903) 470-28-63, E-mail: tat_kolmakova@mail.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию: 10.03.17 г.

Принята в печать: 04.09.17 г.