

# ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 2011  
УДК 611.61.013

*С.М. Пантелеев, Л.В. Вихарева, Н.Г. Мальцева, А.Л. Ушаков, И.Ю. Хамошина,  
О.Ф. Ярославцева, Р.В. Чившина, Н.О. Пяльченкова, А.В. Маргарян и М.М. Белхорова*

## ОЦЕНКА ЗАКОНОМЕРНОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ КАНАЛЬЦЕВ ЗАЧАТКА НЕФРОНА С ПОЗИЦИИ ПРИНЦИПА ПРОВИЗОРНОСТИ

Кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии (зав. — проф. С.М. Пантелеев), Тюменская государственная медицинская академия

На основании изучения окончательных почек 94 эмбрионов и плодов человека от 4,5 до 12 нед развития определено, что формирование проксимальных канальцев нефронов происходит за счет пролиферации клеток зоны перехода формирующейся капсулы клубочка почечного тельца в канальцевую часть нефрона только после завершения выделения в зачатке нефрона почечного тельца и дистального канальца. Формирование канальцев зачатка нефрона оказывается обоснованным филогенетически, а первичное выделение дистального канальца нефрона имеет провизорный характер.

**Ключевые слова:** нефрон, почечное тельце, проксимальный каналец, дистальный каналец, развитие

До настоящего времени остается дискуссионным вопрос о последовательности формирования и особенностях дифференцировки отделов канальцев нефронов окончательных почек в процессе нефрогенеза в эмбриональном периоде [3, 6]. Признавая провизорный характер мезонефрального нефрогенеза с формированием нефронов без петли [1, 10, 12], следует предполагать, что последовательность дифференцировки отделов нефронов является результатом не только морфогенетических, но и эргонтических регуляций [9, 11]. По-прежнему остается открытым вопрос об источниках регенерации отделов нефронов и характере клеток, обеспечивающих восстановление канальцев нефронов [2, 5]. Безусловно, постнатальный нефрогенез и характер восстановительных процессов в почке во многом определяются закономерностями эмбрионального нефрогенеза, когда последовательность закладки и дифференцировки отделов нефронов происходит без воздействия эргонтических факторов. Именно в это время формируется такая модель нефрона, которая отражает филогенетические закономерности выделения отделов нефронов. В этом плане наибольший интерес представляет последовательность формирования и дифференцировки проксимального и дистального канальцев нефронов, и, исходя из этого, их участие в органогенетических процессах, в том числе и в постнатальном онтогенезе.

Материал и методы. Изучены 94 зародыша человека от 4,5 до 12 нед развития. Материал получен из гистологического отделения родильного дома № 2 г. Тюмени

при проведении медицинских абортов у анамнестически здоровых женщин в возрасте от 19 до 36 лет. Методы работы одобрены этической комиссией ГОУ ВПО Тюменской государственной медицинской академии (протокол № 3 от 4 апреля 2002 г.). Срок развития эмбрионов определяли с учетом акушерского анамнеза, дополнительно проводили измерение теменно-копчиковой длины, с 5,5 нед измеряли длину стопы. Полученные измерения сопоставляли с таблицами длины эмбрионов, кроме этого учитывали критерии стадий развития, представленные в Международной классификации Карнеги. Проведена также оценка данных эксперимента односторонней (левосторонней) нефрэктомии с аутоимплантацией ткани почки у 105 белых беспородных крыс-самцов в возрасте 3–5 мес, разделенных на 7 групп по 15 животных в каждой. Удаленные левые почки взвешивали в стерильных условиях на торсионных весах, после чего 50% массы каждой почки использовали для аутоимплантации по классической методике Ф.М. Лазаренко. В стерильных условиях ткань почки измельчали до 0,5–0,75 мм<sup>3</sup>, смешивали с равным объемом кусочков целлоидина аналогичного размера и имплантировали животному с нефрэктомией под кожу передней брюшной стенки. Через 2, 4, 7, 10, 15, 20, 30 сут от начала опыта после эвтаназии животных имплантаты экстирпировали. Все манипуляции с животными выполняли согласно приказу МЗ СССР «О гуманном обращении с экспериментальными животными» № 755 от 12 августа 1977 г., животных выводили из опыта согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ Минвуза от 13 ноября 1984 г. № 724).

Гистологические срезы окрашивали гематоксилином Майера–эозином, железным гематоксилином по Гейденгайну, а также ставили реакции с использованием перйодата — реактива Шиффа по Мак-Манусу и ШИК-реакцию с последующей реакцией связывания коллоидного железа по Риттеру—Олесону. Материал для электронномикроскопического исследования брали не более чем за 30 мин до его фиксации, которую проводили при 4 °С в параформальдегид-глутаральдегидной смеси с последующей обработкой четырехокисью осмия, далее обезживали и

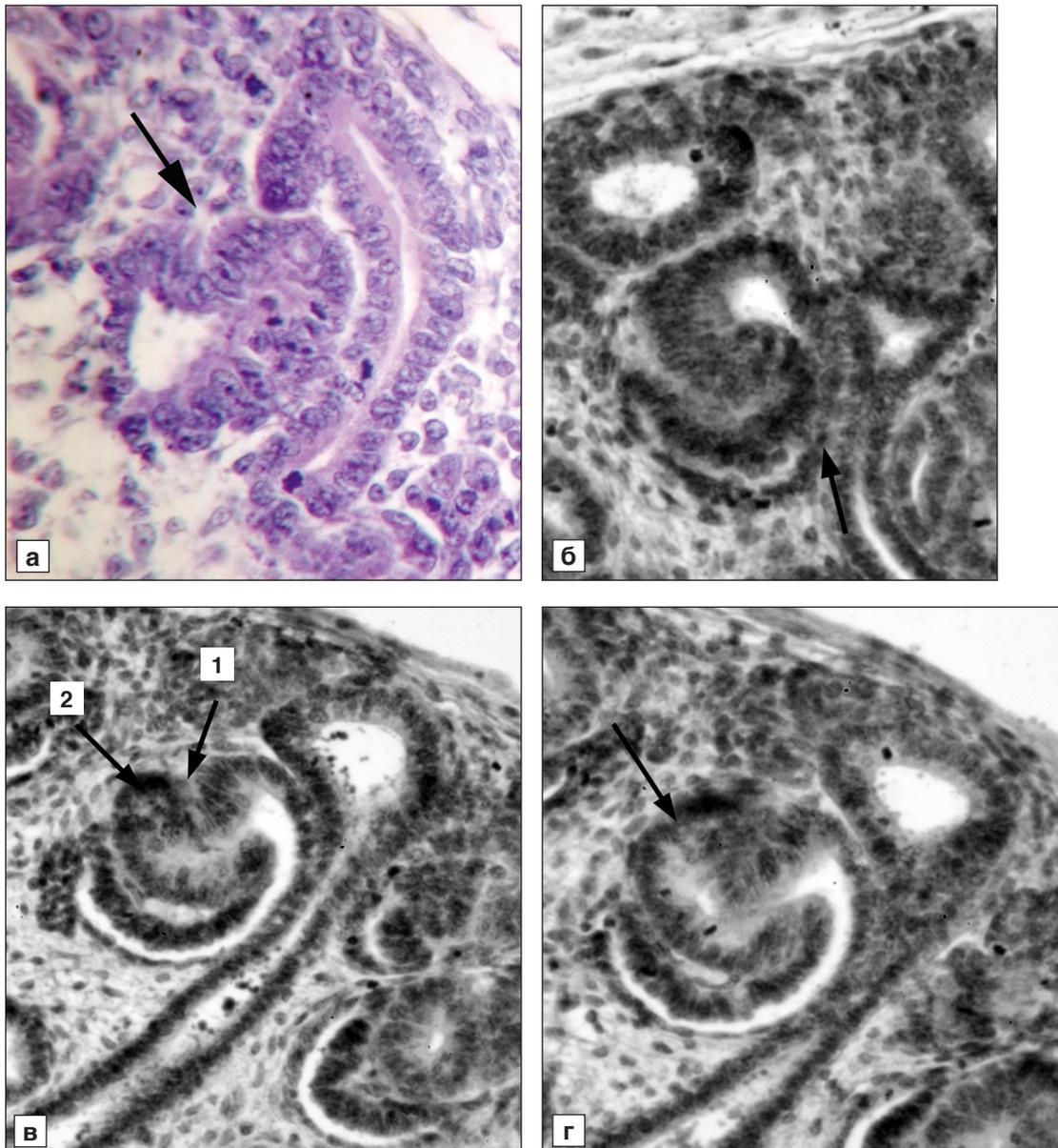


Рис. 1. Метанефрос человека.

а, б — формирование S-образного зачатка нефрона у эмбриона 6,5 нед развития; а — инвагинация стенки пузырька (стрелка); б — плоские клетки в зоне прилегания зачатка нефрона к каналцу — производному метанефротического протока (стрелка); в, г — S-образный зачаток нефрона эмбриона 7 нед развития; в — погружение эпителия с противоположной зоне инвагинации стороны зачатка (1); зачаток канальцевой части нефрона (2); г — инвагинация эпителия, в зоне формирования проксимального канальца нефрона (стрелка). ШИК-реакция. Об. 40, ок. 10.

заливали в аралдит. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и исследовали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-100B (JEOL, Япония).

**Результаты исследования.** Клетки каудальных отделов несегментированной части мезодермы, формирующие зачатки нефронов, вступают в органогенетические процессы только в результате первичного взаимодействия с канальцами — производными дивертикула мезонефрального (вольфова) протока, и в процессе последова-

тельных преобразований проходят стадии шаровидного зачатка, пузырька и S-образного зачатка.

Формирование S-образного зачатка нефрона из шарообразного зачатка через стадию пузырька происходит в результате активной пролиферации клеток зачатка и их миграции из медиальной его стенки к латеральной (рис. 1, а). Миграция клеток дополняется тракционным механизмом органогенеза, что приводит к перемещению зоны активной пролиферации клеток в область инвагинации стенки пузырька, способствуя погружению

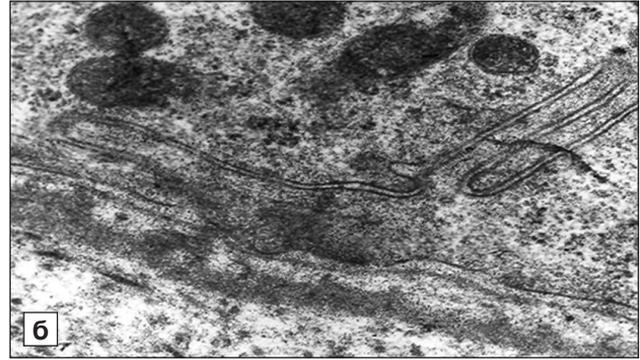
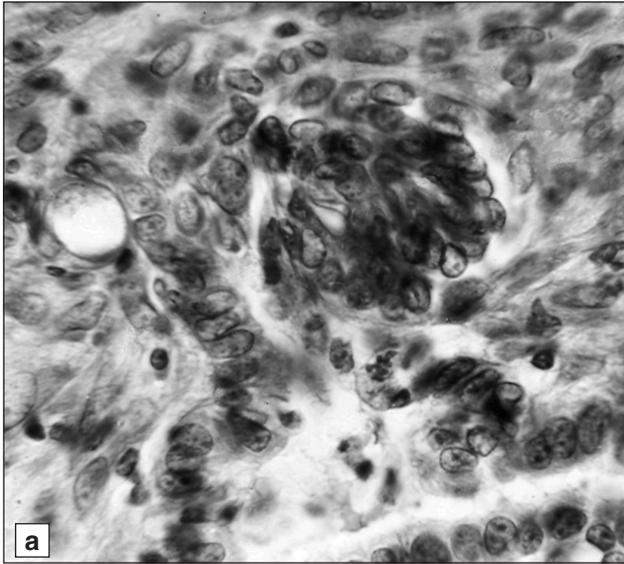


Рис. 2. Имплантат почки крысы на стадии 6 сут (а) и 7 сут (б, в) опыта.

а — формирование почечного тельца; б — формирование базальной мембраны канальца; в — микроворсинки в апикальной части эпителиоцитов. а — ШИК-реакция; б, в — электронные микрофотографии. а — об. 90, ок. 7; б, в — ув. 32 000.

эпителия в полость пузырька (см. рис. 1, а). В свою очередь зона первичной дифференцировки плоских клеток перемещается к зоне прилегания зачатка нефрона к канальцу — производному метанефротического протока (см. рис. 1, б). В этот период развития в зачатке нефрона определяется вдавление со стороны противоположной зоне инвагинации, что приводит к фактическому завершению формирования S-образного зачатка (см. рис. 1, в), в котором наряду с закладкой элементов почечного тельца уже можно выделить эпителиальную «ножку», из которой будет формироваться канальцевая часть нефрона, прилежащая к сосудистому полюсу (см. рис. 1, в). В ходе последующего преобразования зачаток канальцевой части дифференцируется, и его клетки составляют основу только дистального канальца нефрона.

Выделение проксимального канальца нефрона происходит в результате сложных пролиферативных и органотипических процессов. Так, в результате тракционного механизма происходит круговой поворот зачатка нефрона, при этом между зачатком почечного тельца в области активной зоны наружного листка капсулы (будущего устья проксимального канальца) и зачатком дистального канальца формируется еще одна зона инвагинации эпителия (см. рис. 1, г), определяющая последующее выделение проксимального канальца нефрона. Отмеченное погружение эпителия сопровождается врастанием мезенхимы и уве-

личивается за счет пролиферации клеток зоны перехода формирующейся капсулы клубочка в канальцевую часть нефрона, а также продолжающегося поворота зачатка нефрона, что и определяет дальнейший рост проксимального канальца.

Проведенные исследования позволяют отметить, что направленность функциональной дифференцировки канальцев определяется только после органотипического оформления канальцевой структуры нефрона, последовательность которой заключается в первичном выделении на стадии S-образного зачатка почечного тельца и дистального канальца и лишь последующего (в результате активного роста клеток переходной зоны наружного листка капсулы в устье канальца) формирования проксимального канальца нефрона.

Показано, что в имплантатах ткани почки в организме реципиента формирование атипических почечных телец происходит за счет клеток активной зоны устья проксимального канальца нефрона (рис. 2, а), при этом в процессе формирования отделов канальцев нефронов дифференцируются только атипические дистальные отделы, в клетках которых определяется базальный лабиринт (см. рис. 2, б), формируются единичные микроворсинки, а межклеточные промежутки замкнуты десмосомами (см. рис. 2, в).

Обсуждение полученных данных. Активность клеток в области перехода эпителия наружного листка капсулы клубочка в эпителий проксимальных извитых канальцев, отмеченная нами на изученном материале, обнаружена также

в почках мыши, африканского хорька, кролика, свиньи и человека [13, 15]. Кроме того, в складках базальной мембраны эпителия проксимальных канальцев у здоровых людей обнаружены малодифференцированные эпителиальные клетки, которые могут быть отнесены к стволовым клеткам этого отдела нефрона [14]. Наличие таких клеток обеспечивает не только формирование проксимальных канальцев в эмбриогенезе, но и их регенерацию в постнатальном периоде онтогенеза.

Нами показано, что в процессе эмбриогенеза развитие нефрона проходит первоначально без формирования зачатка проксимального канальца, однако в активной зоне зачатка почечного тельца сохраняются клетки, которые способны к дифференцировке новых структур на фоне уже активно текущих в зачатке органогенетических процессов. В постнатальном периоде онтогенеза при действии неблагоприятных факторов, а также при формировании отделов нефронов в условиях имплантации в культурах в организме именно малодифференцированные клетки активной зоны устья проксимального канальца являются источником регенерации канальца нефрона [7, 8].

Определенная нами последовательность формирования канальцев зачатка нефрона представляется обоснованной филогенетически. Уже в метанефридиях аннелид (у дождевых червей), продуцирующих гипотоническую мочу отмечается именно дистальный тип реабсорбции натрия. Аналогичная система адаптации к пресной воде определяется у ракообразных, и в частности у речного рака реабсорбция солей натрия обнаруживается в нефридиальном канале [4]. Отмечено, что экскреторный орган морских раков, не обладающих осморегуляцией (и выводящих изоосмотическую кровь мочу), состоит из одного лишь секреторного отдела, а орган пресноводных раков, продуцирующий гипотоническую мочу, обладает добавочным дистальным отделом. Таким образом, у низших животных в пределах выделительного органа отсутствуют отделы с функцией, аналогичной таковой проксимальных канальцев нефронов, что предполагает их возникновение на значительно более поздних этапах филогенеза.

Выделение проксимального канальца в эмбриогенезе обусловлено и постнатальной дифференцировкой канальцевой части нефрона в условиях формирования механизмов реабсорбции веществ из первичной мочи. В процессе постнатального развития информация о механизмах дифференцировки и эволюционирования проксимального канальца (анаболии) закрепляется и проявляется в последующих поколениях. При этом формиро-

вание проксимального канальца в эмбриогенезе, являясь архаллаксом, детерминируется, в том числе и под действием постнатальных онтогенезов. Суть провизорности в данных механизмах заключается в способности клеток активной зоны зачатка нефрона формировать проксимальные канальцы после завершения выделения зачатка не только почечного тельца, но и дистального канальца.

Таким образом, анализ нашего фактического материала позволил на основании оценки активных зон и динамики пролиферативных процессов в стенке зачатка предположить механизм формирования нефрона в целом и различных его отделов. Определено, что проксимальный каналец нефрона образуется в результате пролиферации клеток зоны перехода зачатка почечного тельца в канальцевую часть нефрона и перемещения устья этого канальца в противоположную от сосудистого полюса сторону почечного тельца. При этом функциональная дифференцировка проксимального и дистального канальцев начинается только после органотипического выделения эпителиальных конструкций данных отделов нефрона. Это определяет и единство структурно-функциональной взаимосвязи отделов нефрона как единой канальцевой структуры с последующей дифференцировкой отделов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Вихарева Л.В. Закономерности нефрогенеза в процессе формирования окончательной почки человека в пренатальном периоде онтогенеза. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Тюмень, 2009.
2. Вихарева Л.В. и Пантелеев С.М. Закономерности реакции нефронов почки оставшейся после односторонней нефрэктомии. Сообщение 2: Морфометрическая характеристика отделов канальцев нефронов почки крысы после односторонней нефрэктомии. Морф. ведомости, 2007, № 1–2, с. 34–39.
3. Волощенко А.А. О развитии нефрона. I. Зачатковый период. Труды 9-й научной конференции по возрастной морфологии, физиологии и биохимии. М., Медицина, 1972, ч. 2, с. 224–228.
4. Гинецинский А.Г. Физиологические механизмы водно-солевого равновесия. М., Л., Изд-во АН СССР, 1963.
5. Кирик О.В. Структурные изменения в эпителии канальцев почки крыс после слабого радиационного воздействия: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2004.
6. Пантелеев С.М. и Вихарева Л.В. Механизм формирования отделов нефрона в эмбриогенезе. Морфология, 2006, т. 130, вып. 5, с. 67–68.
7. Пантелеев С.М. и Вихарева Л.В. Особенности метанефрального нефрогенеза в эксперименте. Морфология, 2008, т. 133, вып. 2, с. 102.
8. Пантелеев С.М., Вихарева Л.В., Соловьев Г.С. и Баженов Д.В. Особенности нефрогенеза в условиях аутоимплантации

- ткани почки в организме нефрэктомированного животного. Морфол. ведомости, 2007, № 1–2, с. 104–108.
9. Пантелеев С.М., Вихарева Л.В., Соловьев Г.С. и Янин В.Л. Метанефрос (нефроногенез). Тюмень, Феликс, 2006.
  10. Соловьев Г.С., Пантелеев С.М., Янин В.Л. и Вихарева Л.В. Принцип провизорности в мезо-метанефральных отношениях. Морфол. ведомости, 2006, № 1–2, с. 51–58.
  11. Соловьев Г.С., Янин В.Л., Новиков В.Д. и Пантелеев С.М. Принцип провизорности в морфогенезах. Тюмень, Изд. центр «Академия», 2004.
  12. Янин В.Л. Структурная характеристика мезонефроса и мезо-метанефральные параллели в пренатальном онтогенезе у человека: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Тюмень, 2001.
  13. Lee S.J., Sparke C.J. and Howie A.J. The mammalian glomerulotubular junction studied by scanning and transmission electron microscopy. *J. Anat.*, 1993, v. 182, № 2, p. 177–185.
  14. Moll R., Müller M. and Thoenes W. Plica cells: A new cell type in the proximal tubule of the human kidney. *Kidney Int.*, 1992, v. 41, № 2, p. 489.
  15. Sparke C.J. Transmission electron microscopy of the glomerulotubular junction in the kidney of man and other animals. *Med. Lab. Sci.*, 1991, v. 48, № 4, p. 348.

Поступила в редакцию 03.05.2011  
Получена после доработки 14.06.2011

#### THE ASSESSMENT OF THE REGULARITY OF THE NEPHRON ANLAGE TUBULE FORMATION ON THE BASIS OF PROVISIONALITY PRINCIPLE

*S.M. Panteleyev, L.V. Vikhareva, N.G. Maltseva, A.L. Ushakov, I.Yu. Khamoshina, O.F. Yaroslavtseva, R.V. Chivshina, N.O. Pyalchenkova, A.V. Margaryan and M.M. Belkhoroeva*

The study of the definitive kidneys of 94 human embryos and fetuses at 4.5 to 12 weeks of gestation, has demonstrated that the formation of the proximal nephron tubules resulted from the cellular proliferation in the area of transition of the capsule of the renal corpuscle into the tubular part of the nephron that occurs only after the completion of the segregation of the renal corpuscle and the distal tubule within the nephron anlage. The formation of the renal tubules in the nephron anlage seems to be determined phylogenetically, while the initial differentiation of the distal tubule is a provisional feature.

**Key words:** *nephron, development, proximal tubule, distal tubule, renal corpuscle*

Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, Tyumen State Medical Academy