

Д.В. Баженов¹, Л.В. Вихарева², С.М. Пантелеев², В.Л. Янин³ и О.Ф. Ярославцева²

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КАНАЛЬЦЕВ НЕФРОНОВ ОКОНЧАТЕЛЬНОЙ ПОЧКИ ЧЕЛОВЕКА ВО ВНУТРИУТРОБНОМ РАЗВИТИИ

¹ Кафедра нормальной анатомии (зав. — чл.-кор. РАМН проф. Д.В. Баженов), Тверская государственная медицинская академия; ² кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии (зав. — проф. С.М. Пантелеев), Тюменская государственная медицинская академия; ³ кафедра гистологии (зав. — проф. В.Л. Янин), Ханты-Мансийская государственная медицинская академия, e-mail: panteleevsm@mail.ru

На 174 эмбрионах и плодах человека от 4,5 до 40 нед развития изучены закономерности формирования недифференцированных канальцев нефронов окончательной почки. На основании морфологических и морфометрических показателей изменения этих канальцев установлено, что увеличение средних показателей площади сечения канальцев связано с последовательным формированием нефронов окончательной почки и дифференцировкой отделов их канальцевой части. Повышение доли эпителия в структуре недифференцированного канальца определено выделением в формирующихся нефронах проксимальных и дистальных канальцев. Последовательность начальных этапов дифференцировки канальцев нефронов обусловлена эргонтическими корреляциями, происходит от проксимального отдела к дистальному и отличается от последовательности их формирования в процессе раннего нефрогенеза.

Ключевые слова: почки человека, нефрон, канальцы, дифференцировка

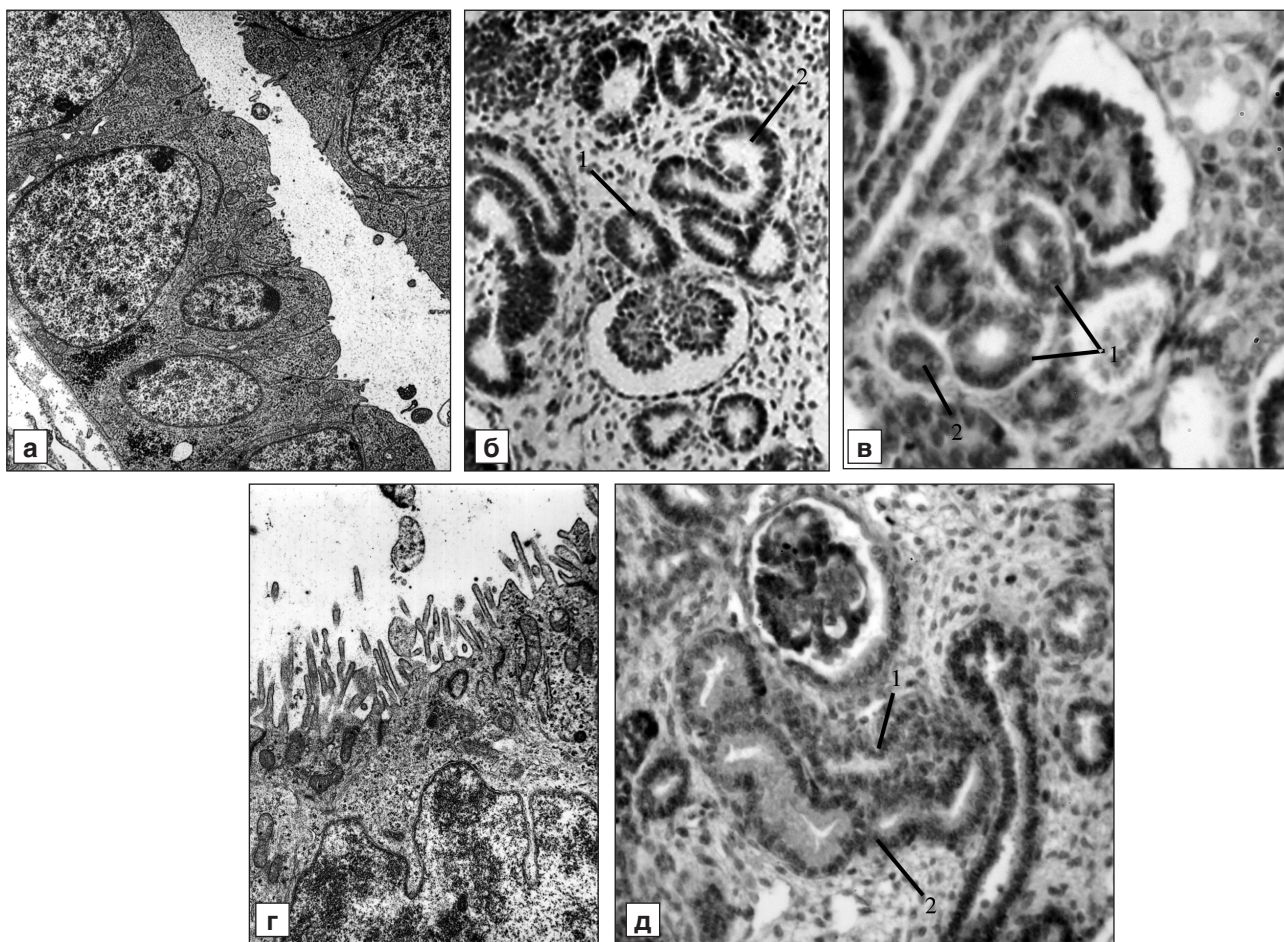
В окончательной почке человека при формировании канальцевая часть всех генераций нефронов проходит недифференцированную стадию. Однако при характеристике стадий формирования отделов нефронов исследователи не отмечают стадию недифференцированных канальцев [1, 3, 12, 14], которая является начальной в этом процессе и определяется после выделения в зачатке почечного тельца. Вопрос о последовательности морфофункциональной дифференцировки канальцевой части нефронов окончательной почки в эмбриогенезе не находит широкого отражения в литературных источниках. Отмечается, что первые признаки дифференцировки канальцев зачатка нефрона на проксимальные и дистальные отделы происходит на 8–9-й неделе внутриутробного развития, а появление признаков функциональной дифференцировки эпителиоцитов проксимальных канальцев — с формированием щеточной каемки начинается на 9–10-й неделе [4, 5, 12]. По нашим данным, формирование щеточной каемки проксимальных канальцев отмечается в дифференцирующихся нефронах первых генераций уже в 8,5 нед развития [2, 9], при этом в указанный период развития тонкие канальцы нефрона не сформированы.

Показано, что в процессе формирования и дифференцировки зачатка нефрона в эмбриогенезе как отражение филогенеза органа моче выделения, первоначально происходит выделение почечного тельца и дистального канальца и лишь затем — проксимального канальца [2, 8]. Цель

настоящего исследования — определение последовательности ранней функциональной дифференцировки отделов канальцевой части нефронов у человека, как проявления филэмбриогенеза [10].

Материал и методы. Закономерности формирования недифференцированных канальцев нефронов окончательной почки изучены на 174 эмбрионах и плодах человека от 4,5 до 40 нед развития. Эмбрионы были получены при проведении медицинских абортов, плоды — при прерывании беременности по социальным показаниям от анамнестически здоровых женщин в возрасте от 19 до 36 лет из гинекологического отделения родильного дома № 2 и патологоанатомического отделения областной клинической больницы № 1 г. Тюмени. Исследование получило одобрение этической комиссии Тюменской государственной медицинской академии (протокол № 3 от 4 апреля 2002 г.). Срок развития эмбрионов и плодов определяли с учетом акушерского анамнеза и данных фетометрии. Результаты измерения сопоставляли с таблицами длины эмбрионов и антропометрических показателей плодов человека, а также учитывали критерии стадий развития эмбрионов, представленные в Международной классификации Карнеги [6, 7, 13].

Изученный период внутриутробного развития был разделен на 30 возрастных групп с интервалом в 0,5 нед в период от 4,5 до 12 нед (4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 10,5, 11, 11,5, 12 нед), и с интервалом в 2 нед в период от 12 до 40 нед (14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40 нед). Каждая возрастная группа включала от 5 до 6 эмбрионов или плодов. Избранный до 12 нед развития интервал был определен опытным путем, так как увеличение временного промежутка до 1 нед приводило к сглаживанию различий, прежде всего морфометрических показателей формирования почки и ее внутриорганных структур в краткосрочные периоды закладки, раннего нефрогенеза и органогенеза. В то же время, прогрессивное нарастание темпа формирования



Метанефрос человека.

а — эпителиальная выстилка недифференцированного канальца эмбриона 7,5 нед развития; б — недифференцированные канальцы эмбриона 8 нед развития. 1 — зачаток дистального канальца нефрона; 2 — зачаток проксимального канальца нефрона; в — недифференцированные канальцы плода 14 нед развития; 1 — зачатки проксимального и дистального канальцев нефрона; 2 — зачаток тонкого отдела петли нефрона; г — микроворсинки на апикальной поверхности эпителиоцита проксимального канальца нефрона эмбриона 8,5 нед развития; д — канальцы нефрона эмбриона 8,5 нед развития; 1 — дистальный каналец нефрона; 2 — зачаток тонкого отдела петли нефрона. а, г — электронные микрофотографии; б, в, д — ШИК-реакция. Ув.: а — 8200; г — 4000; б — об. 20, ок. 10; в, д — об. 40, ок. 10.

нефронов, а также образование генераций нефронов определяет сглаженность метрических показателей и органотипических процессов после 12 нед. Это позволило нам определить как достаточный для выявления морфологических и морфометрических закономерностей от 12 до 40 нед внутриутробного развития интервал оценки изученного материала в 2 нед.

Материал для изготовления гистологических срезов фиксировали в 10% нейтральном формалине. Срезы толщиной 5–7 мкм, окрашивали гематоксилином Майера–эозином, железным гематоксилином по Гейденгайну, а также ставили реакции с использованием периодата — реактива Шиффа по Мак Манусу и ШИК-реакцию с последующей реакцией связывания коллоидного железа по Риттеру — Олесону. Для электронно-микроскопического исследования материал фиксировали при 4 °С в параформальдегид-глутаральдегидной смеси с дофиксацией четырехокисью осмия, после чего обезвоживали и заливали в аралдит. На ультрамикротоме NOVA (LKB, Швеция) изготавливали полутонкие срезы толщиной 1 мкм и окрашивали их метиленовым синим и метиленовым синим — основным фуксином. Ультратонкие срезы контра-

стировали уранилацетатом и изучали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-100B (JEOL, Япония).

При помощи окулярного винтового микрометра МОВ 1-15^x, измеряли диаметры канальцев и их просветов в различных отделах нефрона. Величину площади сечения канальцев определяли, как частный случай площади эллипса $S = (\pi \times A \times B) / 4$, где А — величина большого диаметра в мкм, В — величина малого диаметра в мкм], когда А=В, а площади, занимаемой в канальце эпителием — как производное разности площади сечений канальца и его просвета. В каждой почке эмбрионов и плодов человека проводили измерение от 20 до 40 различных отделов канальцев нефрона, всего в одной возрастной группе измеряли от 100 до 240 канальцев в зависимости от числа изученных почек. Достаточность объектов исследования и количества измерений на всех этапах внутриутробного развития почки определяли исходя из показателя точности опыта (Е), который находится по формуле $E = (\bar{x} : x) \times 100\%$, где х — среднее арифметическое площади, $\bar{x}$ — ошибка среднего. Статистическую обработку полученных метрических данных проводили на персональном компьютере с применением специально разработанной

программы, а также с использованием программы «Excel» из состава пакета «Microsoft Office 2003» с дополнительным пакетом анализа статистических данных. Определяли средние величины показателей площадей сечения канальцев, их просвета и эпителия в каждой возрастной группе (x), ошибку среднего ($\bar{x}$), доверительный коэффициент или критерий Стьюдента (t).

Результаты исследования. На всех этапах внутриутробного развития окончательной почки человека в процессе формирования нефронов отмечается стадия недифференцированных канальцев, которые по структурно-функциональным признакам невозможно отнести ни к одному из отделов (рисунок, а).

Первые недифференцированные канальцы формируются в 7,5 нед развития, после того как происходит дифференцировка зачатков нефронов первых генераций на капсулу клубочка почечного тельца и канальцы. В результате на стадии 8 нед на границе с мезенхимой центральной зоны зачатка почки определяются малодифференцированные канальцы нефрона, и почечные тельца. Несмотря на отсутствие морфофункциональной дифференцировки, уже на этой стадии развития канальцы на своем протяжении имеют различную величину, и в них удается определить по местоположению будущие дистальные отделы, располагающиеся в области сосудистого полюса почечного тельца, и будущие проксимальные канальцы (см. рисунок, б), лежащие в зоне перехода капсулы клубочка в зачаток канальца.

Во всех генерациях нефронов первоначально формируется 2 вида канальцев (см. рисунок, в), и лишь затем на более поздних этапах дифференцировки нефрона в промежутке между дистальным и проксимальным канальцами появляется каналец меньшего диаметра (см. рисунок, в), что свидетельствует о начале выделения тонкого канальца.

В процессе последующего развития канальцевой части нефрона на стадии 8,5 нед эмбриогенеза первыми дифференцируются проксимальные канальцы, эпителиоциты которых преобразуются в кубические и высокопризматические (столбчатые), а на их апикальной поверхности определяются микроворсинки (см. рисунок, г). Дистальные канальцы дифференцируются вторично после проксимальных; они выстланы кубическим эпителием, клетки которого достаточно плотно прилегают друг к другу (см. рисунок, д). Тонкие канальцы по протяжении расположены в промежутке между проксимальными и дистальными и выстланы малодифференцированными кубическими клетками (см. рисунок, д).

Анализ морфометрических показателей недифференцированных канальцев на стадии их

структурной перестройки позволяет метрически подтвердить последовательность ранней функциональной дифференцировки отделов канальцевой части нефронов. Так, площадь сечения недифференцированных канальцев нефронов в 7,5 нед развития составляет $916 \times 22 \text{ мкм}^2$, а величина этого показателя в данной возрастной группе колеблется довольно широко от 267 до 1840 мкм^2 , что свидетельствует о начальном этапе их структурной дифференцировки. На последующих стадиях развития происходит снижение средних показателей площадей сечения этих канальцев. При этом с 12-й до 14-й недели темп снижения составляет 20,2% ($P < 0,001$), а с 16-й до 18-й — 28,9% ($P < 0,001$), в то время как с 14-й до 16-й недели темп снижения незначим.

Относительные подтверждения сохранения этапности формирования и начальной дифференцировки канальцев нефронов можно определить и в период от 18 до 26 нед внутриутробного развития. Так, с 18-й до 20-й недели отмечается значимое увеличение среднего показателя площади сечения недифференцированных канальцев на 10,9% ($P < 0,05$) и их эпителия — на 13,8% ($P < 0,01$), при снижении средней величины площади просвета на 18,7% ($P < 0,01$). С 20-й до 22-й недели определяется также значимое, но снижение средней величины площади сечения канальцев на 10,4% ($P < 0,01$) и площади их эпителия — на 11,8% ($P < 0,01$). В последующий период с 22-й до 24-й недели средняя величина площади сечения недифференцированных канальцев и площади их эпителия не изменяется. Однако уже с 24-й до 26-й недели отмечается уменьшение среднего показателя площади канальцев, их эпителия и просвета на 14,5% ($P < 0,001$), 11,5% ($P < 0,01$) и 43,7% ($P < 0,001$) соответственно, при этом происходит очередное повышение доли эпителия до 93,9%.

В дальнейшем после 26-й и до 36-й недели происходит сглаживание периодичности изменения средней величины площади сечения канальцев и их эпителия в каждой возрастной группе, при этом постепенное в этот период нарастание средних показателей площади оказывается незначимым.

После 36-й недели развития происходит увеличение среднего показателя площади сечения недифференцированных канальцев на 26,6% ($P < 0,001$). С 38-й до 40-й недели продолжается дальнейшее нарастание средней величины площади недифференцированных канальцев на 8,0%, а площади их эпителия — на 11,4% ($P < 0,05$), при этом средняя площадь просвета снижается на

16,7%, что приводит к повышению доли эпителия в структуре канальца до 90,6%.

Обсуждение полученных данных. Оценивая динамику морфометрических показателей недифференцированных канальцев в период от 7,5 до 18 нед развития в контексте зависимости формирования канальцев от этапности последовательного образования нефронов, следует отметить, что именно в период преобладания процессов формирования недифференцированных канальцев происходит снижение среднего показателя доли эпителия и увеличение доли просвета за счет процессов начальной дифференцировки и, в первую очередь, тонких канальцев. В период от 20-й до 22-й и в меньшей степени до 24-й недели происходит уменьшение числа крупных канальцев с небольшим просветом, переходящих в совокупность проксимальных и дистальных канальцев, в то время как с 24-й до 26-й недели преобладают процессы формирования канальцев небольшой величины с хорошо выраженным малодифференцированным эпителием. Нарастание средней величины площади сечения недифференцированных канальцев после 26-й недели развития обуславливается в этот период особенностями органогенеза почки, когда «веерный» тип дифференцировки производных дивертикула мезонефрального протока и формирования нефронов определяет как бы геометрическую прогрессию закладки последних, а, следовательно, и формирования канальцев, не имеющих на ранних этапах образования нефрона цитологической дифференцировки отделов. После 36-й недели развития увеличение средней площади сечения недифференцированных канальцев становится более выраженным, особенно до 38-й недели, и обусловлено активным формированием новых нефронов по периферии коркового вещества почки и выделением их канальцевой части. После 38-й и до 40-й недели повышение доли эпителия в структуре канальца обусловлено выделением в формирующихся нефронах поверхностной зоны будущих проксимальных и дистальных канальцев и отсутствием в этих нефронах тонких канальцев.

Таким образом, проведенные нами исследования позволили установить, что в окончательной почке у человека последовательность начальных этапов дифференцировки канальцев нефронов происходит от проксимального к дистальному, что, по-видимому, обусловлено эргонтическими корреляциями. При этом провизорный характер дифференцировки первых генераций нефронов по мезонефральному типу без формирования петли [2, 11], приводит к более позднему выделению пула малодифференцированных канальцев

небольшого диаметра в эмбриогенезе и их дифференцировке в отделы петли нефрона. Последняя, в свою очередь, также, вероятно, обусловлена эргонтическими корреляциями и отсутствием в организме зародыша и плода сформированной системы концентрации первичной мочи. В окончательной почке человека последовательность функциональной дифференцировки канальцев нефрона отличается от последовательности их выделения в процессе раннего нефрогенеза, когда в S-образном зачатке первоначально формируются зачаток почечного тельца и дистальная, прилежащая к сосудистому полюсу часть канальца, а проксимальный каналец выделяется вторично, за счет пролиферации клеток зоны перехода зачатка капсулы клубочка в канальцевую часть нефрона [2, 8].

ЛИТЕРАТУРА

1. Баринов Э.Ф. и Ткачева О.Н. Современные представления о механизмах эмбрионального развития почки. *Морфология*, 2001, т. 120, вып. 6, с. 90–98.
2. Вихарева Л.В. Закономерности нефрогенеза в процессе формирования окончательной почки человека в пренатальном периоде онтогенеза: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Тюмень, 2009.
3. Волкова О.В. и Елецкий Ю.К. Гистология, цитология и эмбриология. М., Медицина, 1996.
4. Волкова О.В. и Пекарский М.И. Развитие выделительной системы и ее специфика на разных этапах онтогенеза. Гл. IV. В кн.: *Эмбриогенез и возрастная гистология внутренних органов человека*. М., Медицина, 1976, с. 300–339.
5. Волощенко А.А. О закономерностях гистогенеза почечного эпителия. *Актуальные вопросы медицины*. Барнаул, Изд-во Алтайск. гос. мед. ин-та, 1970, с. 172–176.
6. Демидов В.Н., Затиан Е.П., Мартыш Н.С. и др. Клиническая визуальная диагностика. Вып. 1, М., Фирма СТРОМ, 2000.
7. Милованов А.П. и Савельев С.В. Внутриутробное развитие человека: Руководство для врачей. М., МДВ, 2006.
8. Пантелеев С.М. и Вихарева Л.В. Механизмы формирования отделов канальцев нефронов окончательной почки человека в эмбриогенезе с позиции принципа провизорности. *Морфология*, 2010, т. 137, вып. 4, с. 150.
9. Пантелеев С.М., Вихарева Л.В., Соловьев Г.С. и Янин В.Л. Метанефрос (нефрогенез). Тюмень, Феликс, 2006.
10. Северцов А.Н. Главные направления эволюционного процесса. М.-Л., Изд-во Биол. и Мед. Лит., 1934.
11. 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.
12. Gilbert S.F. *Developmental Biology*. Eighth Edit., Sunderland, Mass., Sinauer Associates Inc., 2006.
13. Harkness L. and Baird D. Morphological and molecular characteristics of living human fetuses between Carnegie stages 7 and 23: development stages in the postimplantation embryo. *Hum. Reprod. Update*, 1997, v. 3, № 1, p. 3–24.

14. Larsson L. The ultrastructure of the developing proximal tubule in the rat kidney. *J. Ultrastruct. Res.*, 1975, v. 51, p. 119–139.

Поступила в редакцию 03.05.2011

Получена после доработки 06.06.2011

THE SEQUENCE OF NEPHRON TUBULE DIFFERENTIATION IN THE DEFINITIVE HUMAN KIDNEY DURING THE FETAL PERIOD

D.V. Bazhenov, L.V. Vikhareva, S.M. Panteleyev, V.L. Yanin and O.F. Yaroslavl'tseva

The regularities of the formation of the undifferentiated renal tubules in the definitive kidney were studied in 174 human embryos and fetuses at 4.5 to 40 gestational weeks. On the basis of the study of morphological and morphometrical parameters of these tubules, it was shown that the increase of the average

tubular cross-sectional area was associated with the consecutive formation of the nephrons of the definitive kidney and the differentiation of the segments of their tubular portions. The increase of the proportion of the epithelium in the structure of undifferentiated tubule is determined by the segregation of the proximal and distal tubules within the forming nephrons. The sequence of the initial stages of the renal tubule differentiation is dictated by the ergogenic correlations; it develops from the proximal tubule to the distal one and is different from the succession of their formation in the process of the early nephronogenesis.

Key words: *human kidney, nephron, canaliculi, differentiation*

Department of Human Anatomy, Tver State Medical Academy, Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, Tyumen State Medical Academy, Department of Histology, Khanty-Mansiysk State Medical Academy

© Коллектив авторов, 2011
УДК 616.018-022

В.Г. Бычков¹, О.Г. Соловьева¹, Е.Д. Хадиева⁴, Л.А. Иванова¹, С.В. Куликова³, И.В. Гарчук², С.А. Орлов³, А.Х. Сабиров², К.О. Шилин² и М.И. Беляева¹

МОРФОГЕНЕЗ СТРУКТУРНЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ПРИ СУПЕРИНВАЗИВНОМ ОПИСТОРХОЗЕ

¹ Кафедра патологической анатомии (зав. — проф. В.Г. Бычков), ² кафедра гистологии, цитологии, эмбриологии (зав. — проф. Г.С. Соловьев), ³ кафедра анатомии человека (зав. — проф. Н.Ф. Жвавый), Тюменская государственная медицинская академия; ⁴ кафедра судебной медицины и патологической анатомии (зав. — доц. И.В. Паньков), Ханты-Мансийская государственная медицинская академия, e-mail: bychkov@tyumsma.ru

На модели суперинвазивного описторхоза (СО) на хомячках и секционном материале, полученном от больных с СО показано, что в раннем периоде болезни легкие подвержены изменениям, развивающимся как реакция гиперчувствительности замедленного типа. В хронической фазе СО выявляются экссудативные и, преимущественно, продуктивные реакции, приводящие к интерстициальным заболеваниям легких, фиброзирующему альвеолиту. В сердце при СО развиваются эозинофильноклеточные миокардиты с последующим диффузным кардиосклерозом. В яичках выявлены склеротические процессы с атрофией интерстициальных эндокриноцитов и sustentоцитов. Инициатором структурных преобразований в легких, сердце и яичках являются метаболиты двуустки, откладывающиеся в тканях в виде гранул и конгломератов.

Ключевые слова: *легкие, сердце, яички, описторхоз, тканевые реакции*

Описторхоз — паразитарное заболевание, возбудителем которого является трематода *Opisthorchis felinus*, Rivolta, 1884 (кошачья двуустка), был открыт у человека в 1891 г. проф. К.Н. Виноградовым [5]. В течение многих лет этот гельминтоз подробно изучался врачами и исследователями различных специальностей, что позволило предложить клинкоморфологическую классификацию болезни [2, 11]. В настоящее время признано, что описторхоз является системным заболеванием, сопровождающимся поражением всех органов и тканей хозяина [3, 10, 15, 16].

В обширной литературе отмечено, что больные описторхозом в гиперэндемичных очагах страдают суперинвазивной формой вследствие повторных заражений личинками паразита [3]. Суперинвазивный описторхоз (СО) протекает в виде осложненных форм с экссудативными и продуктивными реакциями в печени, легких, поджелудочной железе, кишечнике, сердце и других органах [4], морфогенез которых изучен недостаточно, что затрудняет лечение, диагностику и реабилитацию больных, проживающих в гиперэндемичных очагах. Наименее исследованными