

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024.
УДК: 616.61-092:616.6-008.6-06-089.168.1

СОЗДАНИЕ МОДЕЛИ ОДНОСТОРОННЕЙ НЕПОЛНОЙ ОБСТРУКЦИИ ВЕРХНИХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В.И. Ковальчук, А.Г. Рогульский

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь.

METHODOLOGY FOR CREATING UNILATERAL PARTIAL OBSTRUCTION OF THE UPPER URINARY TRACT IN AN EXPERIMENT

V.I. Kovalchuk, A.G. Rogulsky

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus.

Введение. «Обструктивные уропатии» – врожденные аномалии мочевой системы, приводящее к нарушению оттока мочи из почки, снижению ее функции, а в дальнейшем к развитию хронической болезни почек и ранней инвалидизации. Уретерогидронефроз – полиэтиологическое заболевание, в основе которого лежит стойкое нарушение оттока мочи из чашечно-лоханочной системы как анатомического, так и динамического характера, влекущее за собой расширение почечной лоханки, чашечек и проксимального отдела мочеточника, атрофические, дегенеративные изменения и нарушения функции почек. Сложность и недостаточная изученность данной патологии, а также сложности с забором биопсийного материала у детей диктуют необходимость изучения её в эксперименте с созданием легковоспроизводимой модели, воспроизводящей неполную обструкцию верхних мочевыводящих путей.

Цель исследования. Создание адекватной, легковоспроизводимой модели неполной односторонней обструкции верхних мочевых путей, которая позволит изучать возникающие при этом нарушения гомеостаза и морфологические изменения в ткани почки, а так же способы их коррекции.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 32-х животных, беспородных белых крысах (обоих полов), массой 250-300г. Животные были разделены на 4 группы: контрольная (интактные крысы) и три опытные группы. Всем животным опытных групп выполнялось моделирование неполной, односторонней обструкции верхних мочевых путей. Экспериментальные животные 1-й опытной группы (ОП 1) выводились из эксперимента на 7-е сутки, животные второй опытной группы (ОП 2) - на 14-е сутки и животные (ОП 3) - на 21-е сутки после начала эксперимента, извлекали почку и иссекали кусочки для гистологических исследований. В гистологических срезах почек экспериментальных животных определяли: диаметр почечных телец и сосудистых клубочков, диаметр проксимальных извитых канальцев, диаметр дистальных извитых канальцев, диаметр собирательных трубок.

Результаты. В результате исследования выявлены наиболее выраженные морфологические изменения на 21-е сутки, носящие деструктивный характер. Оптимальным сроком для моделирования уретерогидронефроза следует считать 14-сутки в связи с обратимостью морфологических изменений.

Выводы. Преимуществами предлагаемого способа является то, что создаётся неполная обструкция просвета мочеточника с сохранением естественного оттока мочи, что морфологически наиболее близко к данной патологии у человека.

Ключевые слова. Обструктивные уропатии, гидронефроз, катетеризация мочеточника, неполная односторонняя обструкция, извитые канальцы, собирательные трубочки, крысы.

Background. "Obstructive uropathy" is a congenital abnormality of the urinary tract, leading to disruption of the urine outflow from the kidney, a decrease its function, and subsequently to the development of chronic kidney disease and early disability. Ureterohydronephrosis is a polyetiological disease, which is based on a persistent violation of the urine outflow of from the pyelocaliceal system, of both anatomical and dynamic nature, entailing expansion of the renal pelvis, calyces and proximal part of the ureter, atrophic, degenerative changes and impaired renal function. The complexity and insufficient knowledge of this pathology, as well as the difficulties with collecting biopsy material from children, indicate the need to study it in an experiment with the creation of an easily feasible model that reproduces partial obstruction of the upper urinary tract.

The aim of the research. Creation of an adequate, easily reproducible model of partial unilateral obstruction of the upper urinary tract, which will allow us to study the resulting disturbances in homeostasis and morphological changes in the kidney tissue, as well as methods for their correction.

Materials and methods. The study was carried out on 32 animals, outbred white rats (both sexes), weighing 250-300g. The animals were divided into 4 groups: control (intact rats) and three experimental groups. All animals in the experimental groups underwent modeling of partial, unilateral obstruction of the upper urinary tract. Experimental animals of the 1st experimental group (EG 1) were removed from the experiment on the 7th day, animals of the second experimental group (EG 2) on the 14th day and animals (EG 3) on the 21st day after the start of the experiment, a kidney was removed and pieces were excised for histological studies. In histological sections of the kidneys of experimental animals, the following were determined: the diameter of the renal corpuscles and vascular glomeruli, the diameter of the proximal convoluted tubules, the diameter of the distal convoluted tubules, the diameter of the collecting ducts.

Results. The study revealed the most pronounced morphological changes on the 21st day, which were destructive in nature. The optimal period for modeling ureterohydronephrosis should be considered 14 days due to the reversibility of morphological changes.

Conclusions. The advantage of the proposed method is that it creates incomplete obstruction of the lumen of the ureter while maintaining the natural outflow of urine, which is morphologically closest to this pathology in humans.

Для цитирования: В.И. Ковальчук, А.Г. Рогульский. СОЗДАНИЕ МОДЕЛИ ОДНОСТОРОННЕЙ НЕПОЛНОЙ ОБСТРУКЦИИ ВЕРХНИХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ. INNOVATIVE SURGERY ON THE SILK ROAD. 2024. 1.

For citation: I.M.Veshkurtseva, M.A.Akselrov, T.V.Sergienko, A.V.Tanzybaev, E.I.Spirina, A.V.Stolyar. CURRENT PROBLEMS OF SYSTEMIC ANTIMICROBIAL THERAPY IN NECROTIZING ENTEROCOLITIS-3 IN NEWBORN INFANTS. INNOVATIVE SURGERY ON THE SILK ROAD. 2024. 1.

Актуальность. В мировом масштабе проводятся широкообъемлемые исследования по увеличению эффективности диагностики и лечения обструктивных уропатий у детей [1]. Под термином «обструктивные уропатии» принято понимать врожденные аномалии мочевой системы, приводящие к нарушению оттока мочи из почки, снижению ее функции, а в дальнейшем к развитию хронической болезни почек и ранней инвалидизации [2,3]. Сложность и недостаточная изученность данной патологии, а также сложности с забором биопсийного материала у детей, диктуют необходимость изучения её в эксперименте.

Известен способ моделирования инфицированного уретерогидронефроза, при котором полоской целлофана шириной 1-1,5 см в два слоя окутывают мочеточник без сдавления, после чего в изолированный участок мочеточника в его стенку и парауретеральную клетчатку вводят микродозу взвеси микроба [4].

Недостатком способа является то, что моделирование инфекционного процесса в почке и мочевыводящих путях прямым введением инфекционного начала в орган, как правило, нерегулируемо, часто безрезультатно. Для использования данной методики требуются большие экспериментальные животные (собаки).

Так же представлен иной способ моделирования гидронефроза путем пересечения нижней ветви почечной артерии у её начала, проведением её за лоханочно-мочеточниковым сегментом и анастомозированием с концом ветви селезёночной артерии по типу «конец в конец». Через 6-12 месяцев определяется гидронефротическая трансформация почки [5]. Недостатками данного способа являются технические сложности с наложением сосудистого анастомоза, длительное время формирования гидронефротической трансформации, необратимость морфологических изменений тканей почки. Для использования данной методики требуются большие экспериментальные животные (собаки).

Поэтому разработка легковоспроизводимой модели, наиболее приближенной к клинике, воспроизводящей неполную обструкцию верхних мочевыводящих путей, является актуальной.

Цель работы – создание адекватной, легковоспроизводимой модели неполной односторонней обструкции верхних мочевых путей, которая позволит изучать возникающие при этом нарушения гомеостаза и морфологические изменения в ткани почки, а так же способы их коррекции.

Методы исследования.

Исследование выполнено на 32-х животных, беспородных белых крысах (обоих полов), массой 250-300г. Животные были разделены на 4 группы: контрольная (интактные крысы) и три опытные группы. Все животные содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище, на одинаковом пищевом рационе в соответствии с нормами содержания лабораторных животных, 12/12 часовом режиме освещения и темноты. С разрешения этического комитета УО «Гродненский государственный медицинский университет» и согласно Европейской конвенции о гуманном обращении с лабораторными животными оперативное пособие проводилось в стерильных условиях с соблюдением всех правил асептики и антисептики. Для наркоза использовался раствор тиопентала натрия в дозе от 30 до 40 мг на 1 кг веса животного за период всего оперативного вмешательства. Всем животным опытных групп выполнялось моделирование неполной, односторонней обструкции верхних мочевых путей. Экспериментальные животные 1-й опытной группы (ОП 1) выводились из эксперимента на 7-е сутки, животные второй опытной группы (ОП 2) - на 14-е сутки и животные (ОП 3) - на 21-е сутки после начала эксперимента. Вывод животных из эксперимента осуществлялся путём декапитации под тиопенталовым наркозом, извлекали почку и иссекали кусочки для гистологических исследований. Взятый материал после фиксации в жидкости Карнуа, заключали в парафин. Изготовленные серийные срезы толщиной 5 мкм окрашивали для морфологических исследований гематоксилином и эозином. В гистологических срезах почек экспериментальных животных определяли следующие параметры структур почечной паренхимы: диаметр почечных телец и сосудистых клубочков, диаметр проксимальных извитых канальцев, диаметр дистальных извитых канальцев, диаметр собирательных трубок [6,7]. Морфометрические исследования проводили с помощью системы компьютерного анализа изображений «Bioscan NT 2.0» и микроскопа Axioscop 2 plus (Zeiss, Германия) (ув.200).

Результаты и их обсуждения. Способ осуществлялся следующим образом. У беспородной крысы под тиопенталовым наркозом производилась подготовка оперативного поля, передней брюшной стенки, путем выбривания до чистой кожи. Оперативное поле обрабатывалось антисептиком - 70% спирт. Выполнялся нижний лапаротомный разрез длиной 3 см на 1,0 см правее от срединной линии. Выделялся дистальный отдел правого мочеточника, располагающийся забрюшинно, диаметром 1,0 - 1,5 мм (рис. 1).

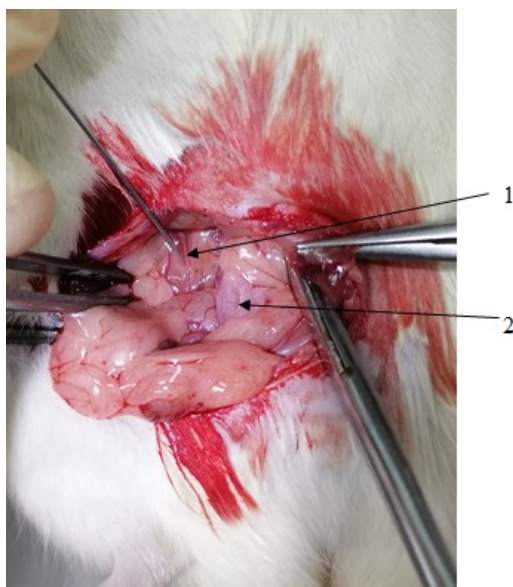


Рисунок 1: Дистальный отдел правого мочеточника.

1) мочеточник; 2) мочевого пузыря.

В его просвет, отступая 0,5– 1,0 см от места впадения мочеточника в мочевой пузырь, на глубину 15,0 мм вводился катетер на игле размером G:24×0.7×19 мм с предварительно

выполненным дополнительным отверстием, которое соответствовало диаметру иглы катетера G24, для оттока мочи, на расстоянии 0,7 – 1,0 см от переходника (рис 2).

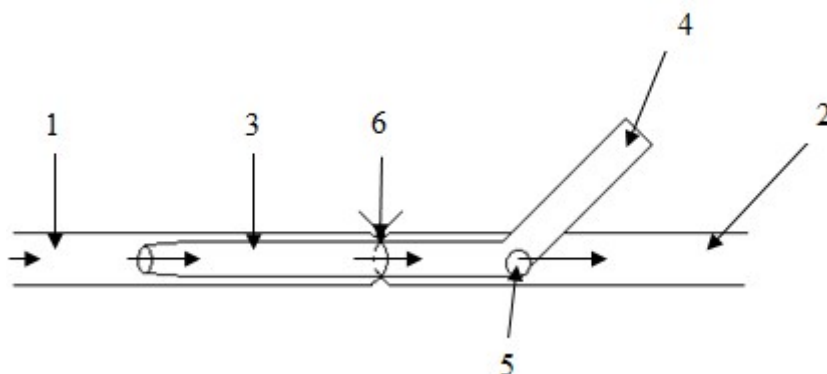


Рисунок.2 Схема модели неполной обструкции верхних мочевыводящих путей

1) Проксимальный отдел мочеточника. 2) Дистальный отдел мочеточника. 3) Проводник от катетера G24. 4) Запаянный конец проводника катетера G24. 5) Боковое отверстие. 6) Фиксирующая лигатура

Контролем местоположения катетера являлось выделение капельки мочи из отверстия катетера. Вместе с этим проводили пробу: через канюлю катетера с помощью шприца вводили 1 мл 0,9% физиологического раствора, мочеточник расширялся в проксимальном направлении. После удаления иглы отводящий конец катетера отрезали от переходника и запаивали, укладывая по задней стенке брюшной полости. Нить - капрон 3.0 завязывали на катетеризированном участке до плотной фиксации катетера в мочеточнике выше уровня дополнительного отверстия, что позволяло предотвратить выпадение его из мочеточника и сформировать неполную обструкцию просвета (рис. 3). Рану послойно ушивали, накладывали асептическую повязку [8].

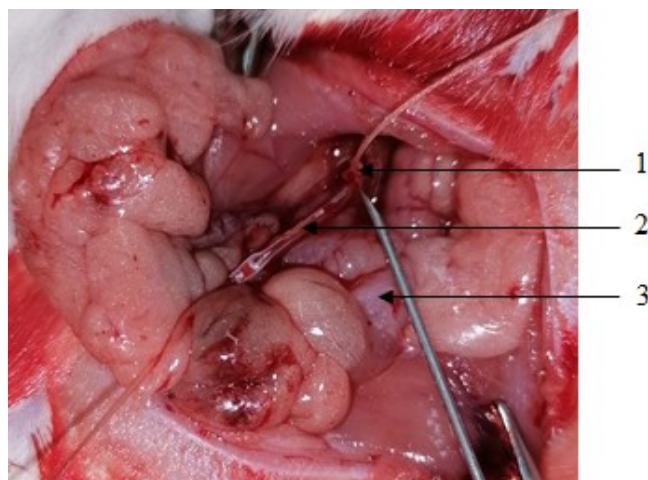


Рисунок 3: Катетеризированный дистальный отдел мочеточника с запаянным концом.

1) фиксирующий узел; 2) катетеризированный мочеточник; 3) мочевого пузырь.

Наличие фиксирующего узла и дополнительного отверстия катетера в просвете мочеточника позволило добиться стойкой компрессии с неполной обструкцией для воссоздания в эксперименте уретерогидронефроза вследствие неполной обструкции верхних мочевых путей, наиболее часто встречающегося в клинической практике.

Адекватность модели оценивали морфологическим методом на 7-е, 14-е, 21-е сутки.

Микроскопическое строение коркового и мозгового вещества почек у животных контрольной группы соответствовало возрастной норме. Четко определялись почечные тельца со всеми структурными компонентами, а также структуры канальцевых отделов нефрона и собирательных трубочек.

При морфологическом исследовании почки определялись следующие характерные изменения: у животных на 7-е сутки неполной обструкции наблюдались умеренно выраженные изменения почечной паренхимы. Во многих почечных тельцах (чаще мелких

размеров) полость капсулы слабо различима. Кровеносные капилляры различного диаметра - встречались узкие с единичными форменными элементами и наоборот, расширенные, переполненные кровью или пустые. Клетки проксимальных канальцев имели кубическую форму со слабобазофильными ядрами. Просветы канальцев проксимального и дистального отделов, собирательных трубочек несколько расширены по сравнению с аналогичными структурами почек у животных группы сравнения (рис 4).

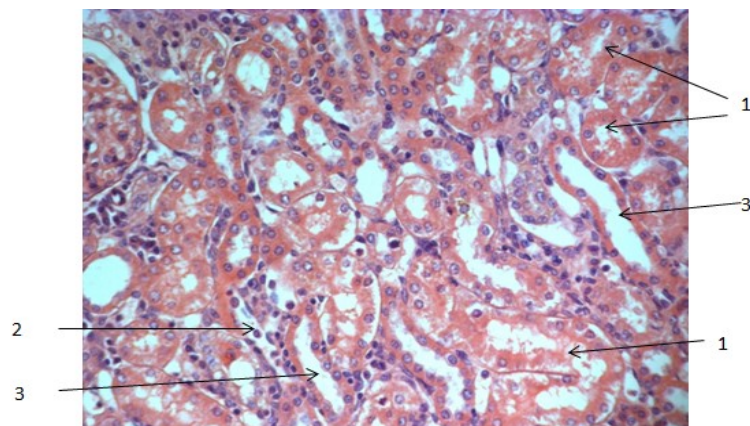


Рисунок 4 – морфологические изменения в почечной ткани у крыс на 7-е сутки с момента моделирования гидронефроза. 1) проксимальные канальцы, 2) дистальные канальцы, 3) собирательные трубочки. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200.

В большей степени выражены структурные изменения в почках у животных на 14-е сутки неполной обструкции (рис 5).

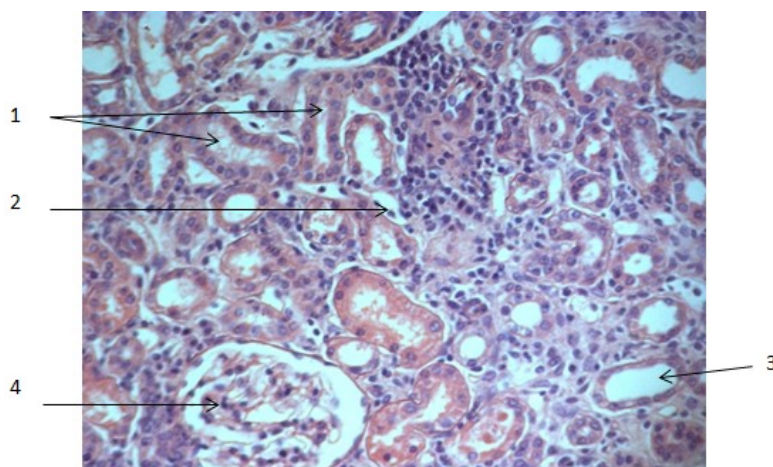


Рисунок 5 – морфологические изменения в почечной ткани у крыс на 14-е сутки с момента моделирования гидронефроза. 1) проксимальные канальцы, 2) дистальные канальцы, 3) собирательные трубочки, 4) Сосудистый клубочек. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200.

Почечные тельца отличались полиморфизмом – от маленьких размеров (почти без выраженной полости капсулы) до крупных с четко выраженным просветом. Сосудистые клубочки переполнены кровью, эндотелий уплощен, видны крупные ядра подоцитов. Нередко встречались канальцы проксимальных отделов с расширенным просветом. Эпителиальные клетки таких канальцев приобретали кубическую, иногда плоскую форму, с базофильными свойствами цитоплазмы, явлениями микровакуолизации и слабо выраженной, местами отсутствующей щеточной каемкой. Размеры ядер уменьшены с нечетко выявляемыми компонентами (ядрышки, хроматин визуализировались слабо). В мозговом веществе наблюдалось расширение просветов тонких канальцев, дистальных прямых и собирательных трубочек. Высота выстилающих их эпителиоцитов была ниже, чем у животных вышеописанных групп. Просветы многих канальцев расширены, наблюдались деструктивные изменения апикальных отделов эпителиоцитов, ядра выпячивались в

просветы канальцев. По направлению к вершечной части пирамид просвет канальцев становился все более широким. Отмечались признаки очаговой атрофии проксимальных и дистальных извитых канальцев. Просветы собирательных трубочек, как и их диаметры, были увеличены, эпителий становился более плоским, а в некоторых наблюдались цилиндры.

В почках животных на 21-е сутки неполной обструкции обнаружено расширение межканальцевых промежутков (как в корковом, так и в мозговом веществе). Многие почечные тельца увеличены в размерах, просветы гемокапилляров расширены и переполнены кровью. Просветы полости капсулы практически не обнаруживались. Отмечалось значительное увеличение просветов проксимальных прямых и извитых канальцев и собирательных трубочек, сопровождаемое снижением высоты их эпителиоцитов. Местами наблюдалась полная деструкция выстилающего эпителия. Степень повреждения варьировала от макровакуолизации и зернистой дистрофии до разрушения и отторжения их апикальных отделов и щеточной каемки. Многие канальцы и собирательные трубочки содержали оксифильную массу, которая хорошо определялась в виде «цилиндров», особенно в мозговом веществе (рис 6).

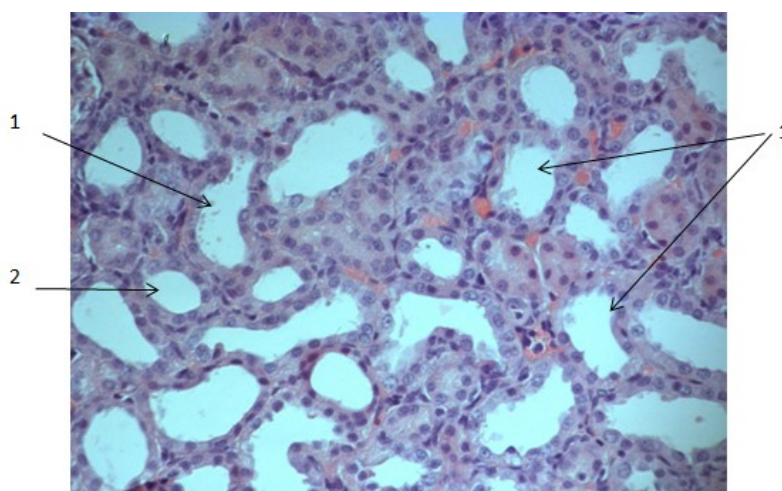


Рисунок 6 – морфологические изменения в почечной ткани у крыс на 14-е сутки с момента моделирования гидронефроза. 1) проксимальные канальцы, 2) дистальные канальцы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200.

В результате исследования выявлено, что оптимальным сроком для моделирования уретерогидронефроза следует считать 14-сутки в связи с обратимостью морфологических изменений. Наиболее выраженные морфологические изменения, носящие деструктивный характер, наблюдались на 21-е сутки.

Таким образом, при моделировании односторонней неполной обструкции верхних мочевых путей происходят морфологические изменения почечной паренхимы: вначале компенсаторные (на 7-е сутки) и обратимые (на 14-е сутки), а в дальнейшем (на 21-е сутки) необратимые с потерей компенсаторных возможностей.

Выводы.

1) Преимуществом предлагаемого способа является создание неполной обструкции просвета мочеточника с сохранением естественного оттока мочи у экспериментального животного, наиболее приближенного к данной патологии у человека.

2) Представленная модель не предполагает перевязки и пересечения мочеточника, так что в дальнейшем не требуется восстановление оттока мочи в мочевой пузырь путем выполнения реконструктивных или восстановительных операций, являющихся технически сложными и небезопасными (разрыв мочеточника и. как следствие, вывод животного из опыта).

3) Данный способ моделирования неполной обструкции верхних мочевых путей позволяет изучать возникающие при этом нарушения гомеостаза, морфологические изменения в ткани почки, что будет способствовать разработке комплекса профилактических и терапевтических мер для лечения данной патологии у детей.

Литература.

1. Мавлянов, ФШ, Мавлянов ШХ. Результаты хирургического лечения обструктивных уропатий у детей в зависимости от уровня и степени обструкции. *Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта*. 2022; 2:98-107.
2. Сидоренко АА, Иодковский КМ. Результаты и диагностика хирургической коррекции обструктивных уропатий у детей. *Фундаментальная наука в современной медицине 2021 : матер. науч. практ. конф. / под ред. С. П. Рубникова [и др.]*. – Минск, – 2021. – С. 180–183.
3. Комарова АА, Китаева ЮЮ, Антонова ИВ, Ковалева ГА, Артюкова СИ. Аномалии органов мочевой системы у детей как предиктор развития хронического пиелонефрита. *Медицина и образование в Сибири*. 2015;5:36.
4. Кернесюк МН, Сергеев АГ. Способ моделирования инфицированного уретерогидронефроза. Патент Российской Федерации № 2423739 С1. 10.07.2011
5. Соснин ДА, Кропачев АЮ, Скляренко ГА, Новочадов ВВ. Разработка модели и морфологическая характеристика почек при неполной (варьирующей) окклюзии мочевыводящих путей. *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2008;1:24-26.
6. Тертышный СИ, Тертышный СИ, Спахи ОВ, Кокоркин АД. Иммуногистохимическое исследование стенки мочеточника у детей с врожденным мегауретером. *Современная педиатрия*. 2016;6 (78):107-110.
7. Онопко ВФ, Гольдберг ОА, Лепехова СА, Циприкова ТЮ. Морфологическое состояние почек при экспериментальном гидронефрозе *Acta Biomedica Scientifica*. 2010;3(73):249-252.
8. Ковальчук ВИ, Рогульский АГ, Михальчук ЕЧ. Способ моделирования обратимого обструктивного уретерогидронефроза у крысы в эксперименте. Патент Республики Беларусь №24044 С1 30.06. 2023.