

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Ростовский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

АКИМЕНКО МАРИНА АНАТОЛЬЕВНА

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ НЕФРОНА ПРИ
ОДНОСТОРОННЕЙ ОБСТРУКЦИИ ВЕРХНИХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ
ПУТЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

3.3.3. Патологическая физиология

Диссертация
на соискание учёной степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Колмакова Татьяна Сергеевна
доктор биологических наук, доцент

Ростов-на-Дону - 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	15
1.1. Современные представления о патогенезе обструктивных заболеваний почек.....	15
1.2. Структурные и функциональные изменения почки в динамике обструкции мочевыводящих путей.....	18
1.3. Роль эпителиально-мезенхимального перехода в патогенезе повреждения почки при обструкции мочевых путей.....	26
1.4. Эндогенная интоксикация при обструкции верхних мочевых путей.....	31
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	34
2.1. Экспериментальная модель обструктивного гидронефроза (обоснование выбора экспериментального животного, выбор модели, описание модели).....	34
2.2. Общеклинические и биохимические методы исследования.....	37
2.3. Морфологические методы исследования.....	39
2.4. Морфометрические методы исследования.....	40
2.5. Молекулярно-биологические методы исследования.....	41
2.6. Методы статистической обработки результатов исследования.....	42
ГЛАВА 3. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	43
3.1. Оценка соматического состояния, изменений общеклинических показателей крови и мочи кроликов в динамике односторонней обструкции мочеточника.....	43

3.2. Макроскопические изменения обструктивной и контралатеральной почек кроликов в динамике односторонней обструкции мочеточника.....	61
3.3. Морфологические изменения ткани обструктивной и контралатеральной почек в динамике односторонней обструкции мочеточника.....	68
3.4. Морфометрические изменения в нефроне обструктивной и контралатеральной почек в динамике односторонней обструкции мочеточника.....	75
3.5. Молекулярные и клеточные изменения в ткани обструктивной и контралатеральной почек в динамике односторонней обструкции мочеточника.....	83
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	94
ВЫВОДЫ.....	100
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	102
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	103
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	105

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Заболевания почек являются глобальной проблемой общественного здравоохранения, затрагивающей более 750 миллионов человек во всем мире [88]. В настоящее время почечная патология занимает одно из ведущих мест среди болезней, имеющих серьезные социально значимые последствия, такие как утрата трудоспособности, инвалидизация, высокая стоимость лечения [38]. Согласно данным ВОЗ болезни мочевыводящих органов занимают 7-е место и составляют 2,5–3% всех причин смертности [187]. Сегодня их можно ставить в один ряд с заболеваниями сердца, легких, раком и сахарным диабетом. Хронические болезни почек (ХБП) занимают одно из ведущих мест в мире среди хронических неинфекционных болезней как по распространенности, так и по затратам на лечение [22, 42, 51, 53]. У 20% больных заболевание ХБП связано с обструкцией мочевыводящих путей и встречается во всех возрастных группах населения [12]. Согласно результатам популяционного мета-анализа обструктивная уропатия (ОУ) является причиной 10% случаев острой почечной недостаточности и 4% хронической почечной недостаточности (ХПН) – одной из лидирующих причин смертности во всем мире [173, 207]. В связи с этим актуальность изучения поражения почек при ОУ очевидна, особенно с учетом того, что почечная дисфункция является независимым фактором риска неблагоприятного течения и исхода для пациентов с сердечно-сосудистой патологией и сахарным диабетом [27, 222].

Хронические болезни почек связаны с высокими затратами на лечение, низким качеством жизни и серьезными неблагоприятными последствиями для здоровья (включая сердечно-сосудистые заболевания, почечную недостаточность, требующую гемодиализ) [62, 242]. К основным угрозам здоровья почек относят камни в почках, инфекции, токсическое острое повреждение почек [165]. Обструктивная уропатия, связанная с мочекаменной болезнью, является частой причиной ХБП [147]. Основная проблема ОУ – это длительный бессимптомный период и, как следствие, запоздалое лечение, что, в свою очередь, является

причиной необратимых повреждений почки. Длительная обструкция мочевыводящих путей приводит к заметным патологическим изменениям в почке, нарушая ее нормальное функционирование [170]. Ключевыми факторами патогенеза повреждения органа при обструкции являются повышение внутриканальцевого давления, локальная ишемия и инфекции мочевыводящих путей. До недавнего времени считали, что повреждение клубочков и интерстиция при ОУ являются основной причиной нарушения функции почек [158, 249]. Однако, исследования последних лет показали, что ведущие патогенетические механизмы хронических форм болезней почек при нарушении оттока мочи сопряжены с поражением проксимальных канальцев [74, 121, 233]. Новые данные о формировании ХБП привлекли внимание ученых к вопросу по адаптивным и компенсаторным механизмам почки при ОУ [180, 219, 220, 238, 246]. Несмотря на то, что общие закономерности развития ОУ известны, недостаточно изученными остаются особенности повреждения почечной ткани при данной патологии и их роль в патогенезе заболевания. В связи с широким распространением мочекаменной болезни особую актуальность приобретает исследование морфологических и клеточных изменений различных сегментов нефрона при механической обструкции мочевыводящих путей [193].

По современным представлениям, эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) является одним из факторов ремоделирования почечной ткани и может рассматриваться как один из механизмов повреждения нефрона в патогенезе ОУ [146, 151]. Клетки, подвергающиеся трансформации эпителиального фенотипа в мезенхимальный испытывают радикальные изменения в подвижности, морфологии, пролиферации, теряют межклеточные контакты и подвергаются ремоделированию цитоскелета [128, 218]. Данные трансформации, в свою очередь, приводят к изменению функций не только самых клеток, но и всего органа. В связи с этим в настоящее время активно исследуются маркеры ЭМП, позволяющие на различных этапах развития патологического процесса с высокой точностью проводить его диагностику [198]. Важно подчеркнуть, что существует ограниченное количество данных, оценивающих корреляцию между

молекулярными маркерами ОУ с показателями оценки функции почек. Изучение особенностей изменений почек при обструктивной уропатии в современной научно-исследовательской деятельности является актуальным, поскольку недостаточно изучены этапы и последовательность, а также патогенетическая значимость отдельных молекулярных и биохимических изменений в формировании морфологических и функциональных нарушений нефрона при ОУ. Отсутствуют данные о влиянии уровня обструкции на развитие ближайших и отдаленных последствий ОУ, как на уровне поврежденной, так и контралатеральной почек. Представлено ограниченное количество сведений об этапах эпителиально-мезенхимальной трансдифференцировки в формировании дезадаптивных изменений почечной ткани при ОУ. В связи с этим ранняя диагностика ХБП является актуальной для профилактики и лечения данных заболеваний [164].

Современная диагностика ОУ ограничена общедоступными клиническими исследованиями структуры почек (УЗИ почек), их функции (концентрация креатинина в сыворотке крови и экскреция альбумина с мочой и др.) [202, 234] и направлена на своевременное выявление причины обструкции, однако не отражает структуру обструктивного органа и функциональный резерв компенсаторного органа. Изучение же морфофункциональных особенностей эпителия различных отделов нефрона в контралатеральной почке при односторонней непроходимости мочеточника позволит установить механизмы компенсации и раскрыть потенциальные возможности здоровой почки.

С учетом высокой социальной значимости ОУ, как заболевания приводящего к инвалидизации молодого трудоспособного населения, необходима комплексная оценка биохимических, морфологических, морфометрических и молекулярных маркеров поражения почек. В связи с этим, актуальным является изучение данной патологии в динамике на экспериментальной модели механической обструкции.

Степень разработанности темы исследования. В мировой научной практике проводятся исследования, касающиеся особенностей

патофизиологических процессов, происходящих на уровне ткани почек, а также клеток нефрона [98, 129, 155, 254]. Известны данные о механике процесса ОУ, демонстрирующие начальные этапы повреждения почечной ткани гидравлическим сопротивлением, с последующими этапами формирования фиброза и атрофии интерстициальной ткани [134, 253]. В Испании [63, 229, 230], США [74, 88, 223-228, 235] и Китае [178, 195] ученые показали, что интерстициальное воспаление и фиброз являются ключевыми процессами при повреждении почек. В России опубликованы единичные работы в области морфологической диагностики заболеваний почек, изучения механизмов и факторов риска возникновения и прогрессирования острого повреждения почек (ОПП), а также молекулярно-генетических механизмов развития ХБП [7, 39, 41-43].

Несмотря на то, что большинство обструкций поддаются коррекции, несвоевременная диагностика из-за отсутствия качественных маркеров длительности обструкции и характера повреждения нефрона может привести к необратимым повреждениям почки, заканчивающимся ХБП, гидронефрозом [17, 19, 34]. От правильности оценки функционального состояния почки во многом зависят выбор тактики лечения и вероятность благоприятного исхода болезни [45]. Однако, до последнего времени окончательно не установлено, в какие сроки дистрофические и компенсаторно-приспособительные реакции в почке приведут к значимой потере функций, а в какие сроки они еще обратимы. На данный момент нет четких клинико-лабораторных критериев оценки тяжести протекающего процесса, что указывает на необходимость изучения морфофункциональных изменений почек в динамике ОУ. Необходимо отметить, что комплексный (многокомпонентный) анализ состояния почечной ткани обструктивной и контралатеральной почек в динамике ОУ в современной научной деятельности не проводился. Также нет единого представления о характере повреждения нефрона при различных уровнях обструкции и тяжести последствий с учетом гистохимических, молекулярно-биологических и биохимических аспектов диагностики.

Цель исследования – установить адаптационные механизмы и патогенетические изменения нефрона обструктивной и контралатеральной почек в динамике экспериментальной односторонней обструкции мочеточника (ООМ).

Для достижения поставленной цели в работе решались следующие **задачи исследования:**

1. Изучить клинико-лабораторные показатели, уровень эндогенной интоксикации и общесоматическое состояние экспериментальных животных в динамике развития односторонней обструкции мочеточника.

2. Провести сравнительное изучение структурных изменений в ткани обструктивной и контралатеральной почек в различные периоды односторонней обструкции мочеточника.

3. Определить наиболее чувствительные маркеры развития необратимых нарушений в обструктивной почке.

4. Изучить взаимосвязь и различия между изменениями в нефроне поврежденной почки и компенсаторными процессами в нефроне контралатеральной почки в динамике односторонней обструкции мочеточника.

5. Выявить взаимосвязь между уровнем эндогенной интоксикации, клинико-лабораторными показателями и степенью патогенетических изменений в ткани обструктивного органа в динамике односторонней обструкции мочеточника.

Научная новизна исследования. При экспериментальном моделировании односторонней обструкции мочеточника *in vivo* впервые показана динамика изменений фенотипа эпителия канальцевой части нефрона контралатеральной почки и ее значение для установления сроков декомпенсации, как ключевого патогенетического звена при длительной обструкции парного органа.

Выявлена связь соматических проявлений и клинико-лабораторных показателей у экспериментальных животных с динамикой патологических изменений в обструктивной и компенсаторными процессами в контралатеральных почках при односторонней обструкции мочеточника.

Установлено значение компенсаторного почечного роста, проявляющегося увеличением элементов нефрона, в частности, площади сосудистого клубочка нефрона, диаметра проксимального канальца за счет высоты его эпителия, увеличением высоты эпителия дистального канальца, в усилении функций контралатеральной почки в динамике односторонней обструкции мочеточника *in vivo*.

Продемонстрирована динамика трансформации эпителия канальцевой части нефрона обструктивной и контралатеральной почек, которая проявляется изменением формы эпителиоцитов, их апикальным сужением и нарушением плотных контактов между эпителиоцитами.

Научно-практическая значимость исследования. В работе показана патогенетическая роль изменений свойств эпителия нефрона и структурные адаптации ткани обструктивной почки в динамике эксперимента. Полученные данные позволили определить клеточные маркеры повреждения обструктивной почки и подтвердили патогенетическую концепцию роли эпителиально-мезенхимального перехода при обструктивных уропатиях. Установлена последовательность структурных изменений в контралатеральной почке, обеспечивающих поддержание гомеостаза в условиях односторонней обструкции мочеточника. Эти данные указывают, что одной из причин хронизации и бессимптомного течения односторонних обструктивных поражений почек является компенсаторные процессы в контралатеральной почке. Полученные результаты исследования расширили знания о патогенетических механизмах развития ХБП на фоне односторонней обструкции мочеточника.

Практическая значимость работы заключается в установлении начала процесса декомпенсации, поскольку переход гипертрофированных нефронов контралатеральной почки к атрофии и фиброзу является уже неадаптивным. Изучение ранних молекулярно-биологических маркеров эпителиально-мезенхимального перехода открывает перспективы для развития таргетной терапии фиброза почки. Практический интерес работы заключается в возможности расширения алгоритма ранней лабораторной диагностики ООМ,

оценки тяжести течения заболевания, прогноза возможных осложнений с использованием показателей эндогенной интоксикации. Полученные данные могут являться основой для проведения дальнейших исследований направленных на создание новых подходов в лечении хронической почечной дисфункции при ООМ. Полученные результаты найдут свое применение в практической работе патологоанатомов, нефрологов, урологов при диагностике, лечении и профилактике ХБП.

Методология и методы исследования. Методологической основой работы является научный эксперимент, системность и междисциплинарность, выраженная в подборе широкого спектра методов исследования, а также классический сравнительный математический подход оценки числовых показателей измерений в основной и контрольной группах.

В работе воспроизводили эксперимент на лабораторных животных (27 беспородных кроликов-самцов). Этот вид млекопитающих, как показали многочисленные исследования [87, 152, 154, 160, 195, 243], является наиболее подходящим биологическим объектом для изучения поражения почек. Животные были разделены на 4 группы: контрольная (n=9) и три опытных группы: I группа – механическая обструкция сроком 7 суток (n=6), II группа - механическая обструкция сроком 14 суток (n=6), III группа – механическая обструкция сроком 21 сутки (n=6). В качестве контроля была использована группа ложно оперированных кроликов.

Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей, Федерацией европейских ассоциаций по науке о лабораторных животных и Международным советом по науке о лабораторных животных. По протоколу экспериментального исследования животных умерщвляли на 7, 14 и 21 сутки. Исследовали кровь, мочу и ткань обструктивной и контралатеральной почек в указанные сроки эксперимента.

Использованы общеклинические и биохимические методы в современном

автоматизированном исполнении: гематологические показатели периферической крови определяли на автоматическом анализаторе, используя флуоресцентную проточную цитометрию для высококачественного анализа клеток крови; биохимические исследования периферической крови, исследование мочи проводили на автоматических анализаторах; измерение показателей эндогенной интоксикации проводили на спектрофотометре.

Для верификации структурных изменений использованы морфологические методы, а на их основе проведены измерения и выполнены молекулярные методики. В основе работ была фиксация, автоматизированная гистологическая проводка образцов ткани для заключения в парафин, микротомия серийных срезов. Полученные срезы окрашивали гематоксилином и эозином по классическому протоколу, использовали специальные гистохимические окраски: Р.А.С.М. Метенамин-серебро, PAS-реакция по Хочкиссу. Для изучения срезов применяли световую микроскопию и морфометрические методы. Гистологические препараты сканировали с увеличением в 40 раз. На полученных изображениях в программе Aperio Image Scope (v. 12.4.0) при помощи встроенных инструментов и шкалы измеряли структуры нефрона. Иммунофенотипирование образцов ткани почки, полученных в эксперименте, проводили с использованием иммуногистостейнера Autostainer Link 48 (Dako, Denmark) по классическим протоколам.

Применены математико-статистические методы с использованием статистического пакета R (версия 3.2, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Основные положения, выносимые на защиту:

Появление соматических и общеклинических признаков нарушения гомеостаза отмечается при патологических явлениях в обструктивной почке и дистрофических изменениях в контралатеральной почке.

2. Повышение нагрузки на контралатеральную почку в острую фазу обструкции до 14 дней не отражается на ее морфофункциональном состоянии, что

позволяет поддерживать основные показатели работы мочевыводящей системы и соматическое состояние экспериментальных животных в пределах нормы.

3. Появление маркеров эпителиально-мезенхимального перехода является предиктором нарушения функций нефрона при односторонней обструкции мочеточника, на что указывает изменение фенотипа клеток нефрона как в обструктивной, так и в контралатеральной почках.

4. В условиях односторонней обструкции мочеточника дополнительная функциональная нагрузка на контралатеральную почку выполняется за счет гипертрофии клеток нефрона (увеличения площади сосудистого клубочка нефрона, увеличения диаметра проксимального канальца и высоты его эпителия, увеличения высоты эпителия дистального канальца).

5. Повышение содержания продуктов эндогенной интоксикации и свободнорадикального окисления начинает регистрироваться при дистрофических изменениях в контралатеральной почке и на фоне выраженных структурных повреждений в обструктивной почке, а их определение может служить ранним маркером начала формирования острого повреждения почек.

Достоверность и апробация результатов исследования. Исследования проведены с использованием широко апробированной экспериментальной модели ООМ, адекватно отражающей динамику адаптивных и патологических изменений в почках. Результаты получены на достаточном объеме изучаемого материала с использованием современных макроскопических, морфологических, молекулярно-биологических, биохимических и общеклинических методов. Использовано сертифицированное оборудование и современные методы статистической обработки полученных данных. Выводы диссертационной работы имеют теоретическое и практическое обоснование, соответствуют целям и задачам проведенного исследования.

Материалы и результаты исследований представлены на 10 научных мероприятиях: межрегиональной научно-практической конференции «Медико-биологические проблемы адаптации» (30 марта 2017г., г. Ростов-на-Дону), межрегиональной научно-практической конференции «Экология и здоровье» (25

мая 2017г., г. Ростов-на-Дону), XII межрегиональной научно-практической конференции «Экспериментальные и теоретические исследования в современной науке» (24 февраля 2018г., г. Новосибирск), V межрегиональной научно-практической конференции «Экология и здоровье» (11 мая 2018г., г. Ростов-на-Дону), V межрегиональной научно-практической конференции «Научные основы создания и реализации современных технологий здоровьесбережения» (19 октября 2018г., г. Ростов-на-Дону), региональной научно-практической конференции «Актуальные проблемы диагностики, лечения и профилактики заболеваний органов мочевой и половой систем» (30 марта 2019г., г. Ростов-на-Дону), 91-й Международной научно - практической конференции студентов и молодых ученых «Теоретические и практические аспекты современной медицины» (18 апреля 2019г., г. Симферополь), VIII научно-практической конференции с международным участием «Генетика - фундаментальная основа инноваций в медицине и селекции» (26-29 сентября 2019г., г. Ростов-на-Дону), XXVII всероссийской конференции молодых учёных с международным участием « Актуальные проблемы биомедицины - 2021» (25-26 марта 2021г., г. Санкт-Петербург), Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы диагностики, лечения и профилактики заболеваний органов мочевой и половой систем» (23 апреля 2021г., г. Ростов-на-Дону).

Внедрение результатов исследований. Основные положения, вошедшие в диссертационное исследование, внедрены в учебный процесс по подготовке врачей на кафедре патологической физиологии, кафедре урологии и репродуктивного здоровья человека (с курсом детской урологии-андрологии) ФГБОУ ВО «РостГМУ», а также в работу специалистов дорожного центра урологии, андрологии и нефрологии ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» г. Ростов-на-Дону».

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано всего 26 научных работ, из них 10 статей в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, включая 3 статьи в журналах, входящих в

международную реферативную базу данных и системы цитирования Scopus, 1 патент на изобретение РФ № 2770551 от 18 апреля 2022 г. (Бюл. № 11).

Личный вклад автора в исследование. Автору принадлежит решающая роль на всех этапах исследования. Все результаты экспериментальных исследований, представленные в диссертационной работе, получены лично автором или при его непосредственном участии на всех этапах проведенного исследования, включая планирование и проведение экспериментов, выполнение лабораторных исследований, аналитическую обработку данных, научное обоснование и обобщение полученных результатов, а также их оформление и публикацию.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, раздела материалов и методов исследования, изложения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка цитируемой литературы, содержащего 256 источника, в том числе – 202 зарубежных. Работа изложена на 132 страницах печатного текста, содержит 7 таблиц и 40 рисунков.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные представления о патогенезе обструктивных заболеваний почек

Обструктивная уропатия относится к аномалиям структуры или функции мочевыводящих путей, иногда приводящему к нарушению почечной функции (обструктивной нефропатии) [58, 60]. Причиной развития ОУ могут являться как физиологические процессы, например, беременность, так и патологические состояния такие как, мочекаменная болезнь, аденома и рак предстательной железы, врожденные аномалии развития мочеточника и т.д. Независимо от первопричины ОУ функциональные изменения мочевой системы, обусловленные препятствием (полным или частичным) для оттока мочи, могут возникнуть на любом уровне мочевых путей – от почечных канальцев до мочеиспускательного канала [40, 94, 106].

Одним из ведущих исследователей в области определения механизмов развития хронической обструктивной уропатии является Truong L.D. (The Methodist Hospital, Houston, USA). Начиная с 1992 года, под его руководством и с его участием была выполнена серия экспериментальных исследований по ОУ. Truong L.D. с соавторами на экспериментальной модели односторонней обструкции мочеточника установили прогрессирующее повреждение эпителиальных клеток нефрона, включая апоптоз, пролиферацию, потерю дифференцировки. Благодаря этим исследованиям стало известно, что в интерстиции появляются воспалительные инфильтраты, белки внеклеточного матрикса теряют растворимость и осаждаются, формируется фиброз, характеризующийся потерей перитубулярных капилляров. Эти изменения приводят к потере функции обструктивной почки на фоне сохранения гломерул и крупных кровеносных сосудов [86, 223-228, 235].

Значительный вклад в изучение данной проблемы внесли ученые исследовательской группы Мадридского автономного университета (Испания)

[63, 229-230]. На экспериментальной модели односторонней обструкции мочеточника авторы доказали, что интерстициальное воспаление и фиброз являются ключевыми процессами при повреждении почек.

Существенный вклад в изучение механизмов повреждения нефрона, при различных формах нарушения функций почек внесли ученые из России. Исследованиями в области морфологической диагностики заболеваний почек, изучением механизмов и факторов риска возникновения и прогрессирования ХБП, а также молекулярно-генетическими механизмами развития ХБП занимаются в научно-клиническом исследовательском центре ПСПбГМУ им. И.П. Павлова. Профессор Алексей Владимирович Смирнов, директор этого центра, одним из первых в РФ предложил концепцию развития хронической болезни почек и острого повреждения почек (ОПП). Смирнов А.В. и соавторы под ОПП предложили понимать острое (часы, недели), потенциально обратимое повреждение почечной паренхимы различной этиологии и патогенеза со снижением или без снижения экскреторной функции почек [23-24, 39-44].

Широкая география исследований, посвященных хронической и прогрессирующей почечной функциональной недостаточности свидетельствует об актуальности проблемы. Так, группа ученых из Китая под руководством Guang-Ping Ruan (Stem Cell Engineering Laboratory of Yunnan Province, Kunming General Hospital of Chengdu Military Command, Kunming) изучала почечную дисфункцию на экспериментальной модели односторонней обструкции. Авторы показали, что при обструкции развивается клубочковый склероз и почечный интерстициальный фиброз, то есть происходит уменьшение нормально функционирующей почечной массы. Полученные результаты легли в основу разработки новых технологий лечения почечной патологии, включая метод трансплантации индуцированных мезенхимальных стволовых клеток для лечения ХБП [178, 195]. Успехи в области лечения почечной патологии стали возможны за счет более глубокого понимания роли сигнальных молекул, изменение которых было установлено ранее рядом авторов. В частности, установлено, что события, развивающиеся при обструкции почки, сопровождаются повышением клеточных

медиаторов, таких как трансформирующий фактор роста (TGF) β 1 [189], ангиотензин [256], остеопонтин (OPN) [127]. Было установлено, что из числа изученных сигнальных молекул ведущая роль в индукции фиброза принадлежит цитокину TGF- β 1.

В клинической практике нередко случаи длительного бессимптомного протекания непроходимости мочеточника до момента, пока повреждение не достигнет стадии прогрессирования (рисунок 1.1.1), в связи с этим актуальным является детальное изучение процесса и поиск маркеров динамики ОУ.

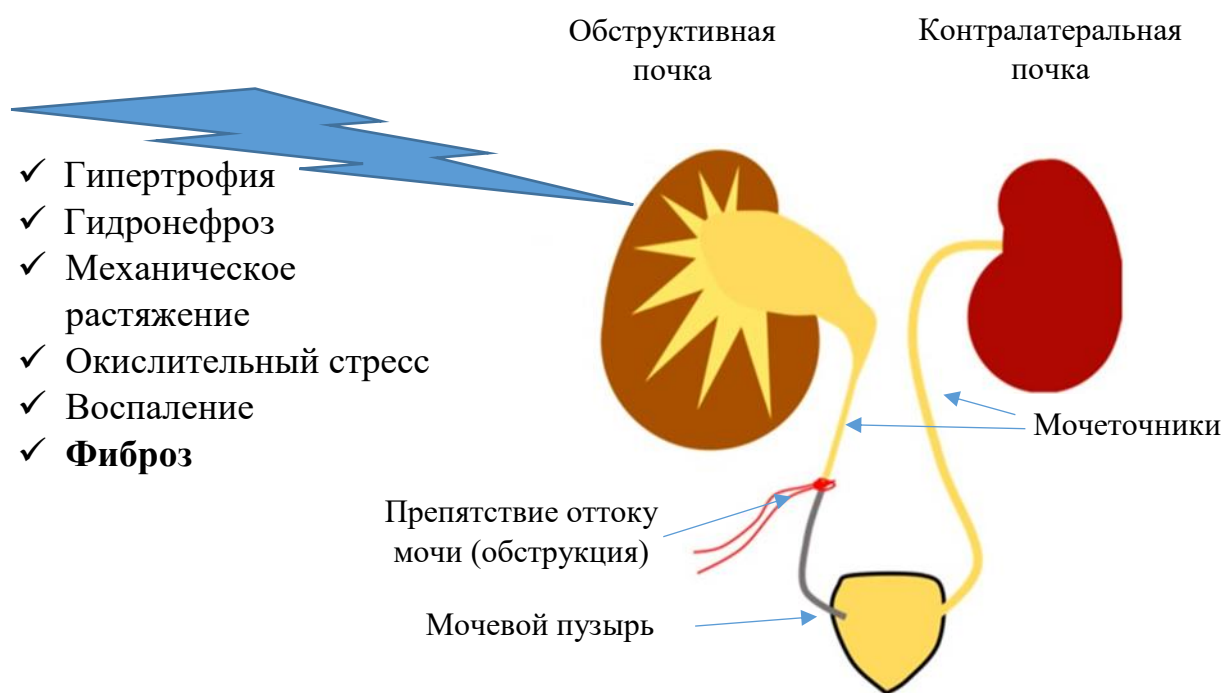


Рисунок 1.1.1. – Схема патофизиологических процессов, протекающие в обструктивной почке при ООМ.

Схема иллюстрирует, что морфологические изменения почки при обструкции мочевыводящих путей первичны, однако структурные и функциональные изменения тесно взаимосвязаны, особенно на этапах хронической обструкции. Большинство авторов при изучении данного вопроса придерживаются структурно-функционального подхода в описании выявленных изменений.

1.2. Структурные и функциональные изменения почки в динамике обструкции мочевыводящих путей

Экспериментальное изучение обструктивной уропатии чрезвычайно важно для понимания биофизических, физиологических и морфологических основ патологии почек. В частности, было установлено, что нарушение оттока мочи из почки вызывает повышение гидростатического давления в ней, что является первопричиной расширения чашечно-лоханочной системы (ЧЛС). Затем это давление передается в дистальные и проксимальные отделы почечных канальцев. Повышение давления в проксимальных канальцах имеет два эффекта: снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и механическое повреждение канальцевых эпителиальных клеток в результате их растяжения. Постоянство обструкции приводит к увеличению вазоконстрикции сосудов почек, что, в свою очередь, может привести к недостаточному кровоснабжению органа и его ишемии [166].

Экспериментальные исследования ОУ с использованием лабораторных животных разных видов активно проводятся в последние годы, однако результаты этих работ в ряде случаев противоречивы.

Так, экспериментальное исследование на крысах показало, что обструктивная почка весит больше, чем контралатеральная [150; 240]. Тогда как по данным других авторов, длительная перевязка мочеточника вызывает выраженный гидронефроз пораженной почки и сопровождается потерей функциональной ткани и веса, атрофией клеток канальцевого эпителия и развитием интерстициального воспаления и фиброза [137]. В конце прошлого столетия Truong L.D. с соавторами изучали влияние обструктивной уропатии на пролиферацию и апоптоз клеток нефрона в течение 90 дней. С использованием ДНК маркеров авторы показали, что апоптоз тубулярных клеток обструктивной почки быстро возрастал к 25-му дню обструкции. В этот же срок авторы обнаружили, что вес почек и средний диаметр канальцев значительно снизились. На основании этих данных было сделано заключение, что апоптоз способствует

канальцевой атрофии и потере веса почки при длительной обструктивной уропатии [226]. Спустя два года Klahr S. высказал мнение, что апоптоз тубулярных клеток может быть ключевым звеном патогенеза, приводящим к атрофии канальцев и потере почечной ткани, которые отмечаются у животных и людей с хронической обструктивной уропатией [136]. Аутопсийные исследования почек больных ОУ показали корреляцию между количеством и размером клубочков с весом почек [176]. В настоящее время есть доказательства, что вес обструктивной почки и толщина коры зависят от срока обструкции и состояния клубочков [255].

Вовлечение клеточных механизмов в патогенез ОУ указывает на метаболические изменения в клетках пораженного органа. Одним из общепризнанных факторов, вызывающих гибель клеток, в том числе и апоптоз, является окислительный стресс. Одним из первых на митохондриальную дисфункцию и активацию окислительного стресса указал Kawada N. [130]. Есть данные, что к 14-му дню обструкции в контралатеральной почке подавляется системный ядерный фактор (Nrf2) - главный регулятор клеточного окислительно-восстановительного гомеостаза, что является предиктором апоптоза и дисфункции митохондрий [84, 192, 244]. После 14 дней хронической обструкции, когда отмечается выраженный перитубулярный фиброз, развивается гипоксия и имеет место механическое воздействие на эпителиальные клетки, нарушается внутриклеточный баланс активных форм кислорода (АФК) [191]. По мнению ряда авторов, рубеж между жизнью и смертью поврежденных клеток почечных канальцев напрямую зависит от степени митохондриальной дисфункции, как основного источника АФК, и окислительно-восстановительного гомеостаза клетки в целом [93, 159, 64].

Поскольку почки парные органы, то при нарушении функционирования одной из них, закономерно повышается нагрузка на другую, что отражается на ее морфофункциональном состоянии.

Компенсаторный почечный рост (КПР) контралатеральной почки после одностороннего повреждения органа является клинически известным явлением.

Изменения, наблюдаемые в неповрежденной почке, отражают структурные адаптации органа к возросшей нагрузке. Первым исследователем, продемонстрировавшим это явление, был С. Сасердотти, итальянский патолог, который опубликовал важный доклад в 1896 году о компенсаторной почечной гипертрофии в экспериментальном исследовании на взрослых собаках [201]. С тех пор экспериментальные исследования по изучению КПП после односторонней нефрэктомии или обструкции проводились на взрослых и новорожденных животных с использованием разных моделей. Тем не менее, морфологические, клеточные и молекулярные механизмы, лежащие в основе КПП остаются только частично понятыми. Как показали результаты ряда авторов, к КПП причастны различные факторы, включая вазоактивные и половые гормоны, ренин-ангиотензиновую систему, брадикинин, альдостерон, натрийуретический гормон, эндотелины, цитокины, внеклеточные матричные белки, инсулиноподобные факторы роста и другие сигнальные молекулы [59, 73, 85, 156].

В настоящее время установлено, что гиперпластические и гипертрофические изменения являются ведущими в контралатеральной почке и основные усилия ученых были направлены на изучение КПП в зависимости от тяжести и продолжительности УО [101, 122, 245]. Актуальность этих исследований объясняется тем, что компенсаторная гипертрофия и гиперфункция контралатеральной почки может длительно маскировать функциональную потерю в обструктивной почке и приводит к поздней диагностике заболевания [83].

В модели полной односторонней обструкции мочеточника компенсация утраченной функции начинается увеличением контралатеральной почки в течение 20–30 дней после перевязки мочеточника [75]. При этом, компенсаторная контралатеральная гипертрофия связана не с увеличением количества клубочков, а с увеличением их объема [171]. Похожие результаты были получены несколько раньше М. Mullerad с соавторами. Они показали, что после односторонней нефрэктомии объем почечной паренхимы увеличился на $11\% \pm 7,5\%$. [169]. По данным Funahashi Y. и соавторов наибольшее увеличение объема паренхимы

контралатеральной почки происходит в течение первой недели после нефрэктомии и остается без изменений до полугода [99-100].

Изучение компенсаторной гипертрофии контралатеральной почки на зародышах овцы в разные годы показало, что увеличение размеров органа не связано с увеличением числа нефронов или гистологическими изменениями органа [184, 209].

Экспериментальные исследования на животных позволили выявить необычайную сложность реакций клеточных популяций стромы и паренхимы почки в ответ на ОУ. Однако существуют значительные разногласия в отношении патогенных проявлений фиброза. Есть мнение, что накопление почечного интерстициального матрикса – основная причина перитубулярной капиллярной облитерации, канальцевой атрофии и прогрессирующей почечной недостаточности [95]. Противоположное мнение состоит в том, что почечное воспаление приводит к повреждению клубочков и канальцев некоторых нефронов, что, в свою очередь, приводит к повреждению оставшихся нефронов, при этом интерстициальный фиброз представляет вторичное проявление заболевания [142].

Установлено, что полная механическая блокада инициирует развитие событий в «закупоренной» почке, приводящих к снижению почечного кровотока и скорости клубочковой фильтрации в течение 24 часов [231]. По мнению Docherty N.G. механическое препятствие оттоку мочи в течение нескольких дней приводит к гидронефрозу, воспалительной инфильтрации в интерстиции (с преимущественным участием макрофагов) и к гибели тубулярных клеток. Причиной гибели эпителиальных клеток канальцев путем апоптоза или некроза, является ряд факторов, вызванных ОУ, в числе которых ишемия, гипоксия, повреждение окислительными агентами и механическое давление, вызванное дилатацией ЧЛС [94].

Показано, что односторонняя непроходимость мочеточника приводит к снижению кровотока и, как следствие, нарушению нормального функционирования обструктивной почки. При длительной обструкции отмечается

видимое расширение чашечек и лоханки, возникают необратимые структурные изменения – атрофия, воспаление, фиброз с потерей почечных функций [30]. В модели односторонней обструкции показано, что первоначальное повреждение в результате механического растяжения приводит к апоптозу эпителиальных клеток почечных канальцев [79, 118] и секреции проапоптотических растворимых факторов [230]. Кроме того, появление воспалительного процесса вследствие ишемии и гипоксии также способствует повреждению почек продуктами свободнорадикального окисления [135, 240, 118].

Три типа клеток подвергаются изменениям в большей степени, что играет ведущую роль в патогенезе и повреждении почек: тубулярные эпителиальные клетки, инфильтрирующие воспалительные клетки и интерстициальные фибробласты. Апоптоз тубулярных клеток в обструктивной почке наблюдался уже на 3 сутки ОУ [212]. Поврежденные тубулярные клетки способствуют образованию утолщенной базальной мембраны (БМ), состоящей в основном из коллагена типа IV, обеспечивающего механическую прочность БМ. Фибробласты являются основными источниками образования тубулоинтерстициального внеклеточного матрикса (ВКМ). Накопление ВКМ приводит к фиброзу и рубцеванию тканей [109]. Существует мнение, что тубулярная атрофия приводит к почечной недостаточности и интерстициальным фиброзу больше, чем повреждение клубочков в модели ОУ [241]. Например, в работах Guo J. с соавторами, на 21-й день ОУ значительных патологических изменений в клубочках почки не наблюдалось [109]. Kido T. с соавторами пишут о существующей корреляции между прогрессирующей гибелью эпителиальных клеток канальцев с прогрессированием фиброза и более тяжелым фиброзом почечных тубулоинтерстиций в почечной коре [133]. Морфологические исследования показали, что в обструктивной почке имеются серьезные структурные повреждения канальцев: уменьшение их числа, атрофия, расширение канальцев, кистозная дилатация, инфильтрация воспалительных клеток, апоптоз канальцевых эпителиальных клеток, тубулоинтерстициальный фиброз и накопление ВКМ [71, 214].

Так исследования показали, что на первые сутки ОУ развивался отек эпителиальных клеток почечных канальцев, наблюдалось небольшое расширение канальцев как в коре, так и в мозговом веществе, тогда как грубых морфологических изменений обнаружено не было. На третьи сутки были зарегистрированы воспалительные клеточные инфильтраты, канальцевая атрофия, расширение канальцев и интерстициальный фиброз. После недели ОУ интерстициальный фиброз уже был обнаружен как в коре, так и в мозговом веществе вместе с атрофией канальцев, коллапсом кровеносных сосудов, инфильтрацией воспалительных клеток и повышенной продукцией ВКМ. На 14-е сутки фиброз в обструктивной почке был очень явным и более тяжелым, чем на 7-е сутки, с разрушением большинства канальцев и с выраженной дезорганизацией в структуре проксимальных и дистальных канальцев [131-132, 212].

Фиброз почек является завершающим патогенетическим звеном в развитии терминальной стадии ХБП и может быть потенциальной причиной летального исхода почечного заболевания [199, 153]. Tasanarong A. с коллегами выделил два ключевых этапа в развитии фиброза. Ранняя стадия характеризуется появлением сигналов стресса, таких как TGF- β 1, p-Smad2/3, способных останавливать клеточное деление. На втором этапе главным является эпителиально-мезенхимальный переход [214]. Процесс сопровождается повышением уровня α -SMA и наличием миофибробластов [60]. Уже на 14-е сутки ОУ фиброз является основным фактором нарушения функции обструктивной почки [208, 240].

Таким образом, полученные на сегодняшний день данные позволили выделить основные процессы, ведущие к развитию почечного интерстициального фиброза после ОУ: (1) интерстициальная инфильтрация макрофагами, которые продуцируют цитокины, ответственные за апоптоз клеток канальцев, пролиферацию и активацию фибробластов; (2) гибель трубчатых клеток в результате апоптоза и некроза, приводящая к атрофии канальцев; (3) фенотипический переход резидентных почечных клеток [167-168, 215]. В дополнение к пролиферации резидентных интерстициальных фибробластов тубулярные клетки могут претерпевать ЭМП, благодаря которому эпителиальные

клетки приобретают мезенхимальные характеристики и проникают в интерстиций, способствуя отложению ВКМ [120].

Несмотря на успехи, достигнутые в понимании механизмов повреждения почек, ключевые процессы, лежащие в основе адаптационных изменений ткани почки и способные обеспечить длительное сохранение гомеостаза, изучены недостаточно. Более того, данные по этой проблеме противоречивы [232]. Так, согласно данным Hegarty N.J., снижение функциональной ткани обструктивной почки компенсируется увеличением перфузионных и трофических изменений в контралатеральной почке [114]. Другие авторы полагают, что контралатеральная почка относительно быстро справляется с новым функциональным режимом, однако, компенсаторные возможности носят ограниченный характер и зависят от продолжительности обструкции парного органа [245]. Есть альтернативное мнение, согласно которому компенсация функций почки при ОУ носит комплексный характер и сопровождается дегенерацией нефронов [6].

Таким образом, несмотря на большое количество работ, посвященных ОУ и ХБП, целый ряд вопросов требует уточнения и более глубокого изучения. В их числе гистологические и клеточные изменения канальцевого аппарата мозгового и коркового слоев, клубочков, сосудов, стромы почек в отдаленные сроки развития патологического процесса. Остаются малоизученными функциональные и морфологические изменения в контралатеральной почке [83]. 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 и некротических процессов в них, что позволит дать объективную оценку функциональному состоянию нефрона.

Ультраструктурное исследование остается важным диагностическим инструментом в диагностике различных заболеваний почек и/или их дисфункции [181]. Исследование Scaglione F.E. с коллегами показывает, что электронная микроскопия необходима для дополнения гистологических исследований, особенно для определения ранних стадий заболеваний почек (патология

эпителиальных клеток канальцев, изменения базальной мембраны канальцев и базальных мембран клубочков). Электронная микроскопия помогает при определении уровня очагового поражения и позволяет различать различные клинические и патологические изменения, например, такие как фибриллярные отложения (протеины) при амилоидозе. При проведении электронно-микроскопического метода исследования ткани почки становится доступна информация о количественных и качественных особенностях всех элементов нефрона: гломерулярной базальной мембраны, мезангия, мембраны гломерулярных капилляров, эндотелия, длинных и коротких отростках подоцитов и др. [200]. Анализ ультраструктурных изменений различных отделов нефронов, с применением метода электронной микроскопии, позволяет производить дифференциальную диагностику заболеваний почек, в частности различных видов нефропатий (IgA нефропатия, диабетическая нефропатия) [14, 182]. В настоящее время представлено большое количество работ, включающих ультраструктурные исследования почек лабораторных животных, с применением различных видов воздействий, таких как, ионизирующее излучение, тяжелые металлы, токсические вещества и др. [37, 172, 206, 124]. Так Смирнов А. В. с соавторами показали в эксперименте на крысах влияние дефицита веществ на ультраструктурные изменения эпителия проксимальных канальцев [41]. Экспериментальное исследование помогает выявить и изучить закономерность ультраструктурных изменений в клубочках и других отделах нефрона, развивающиеся в разные сроки обструкции мочевыводящих путей.

Wang H. с коллегами исследовали, какие же морфологические изменения произошли в ультраструктуре клубочков при обструктивной уропатии. Экспериментальные результаты продемонстрировали, что структуры клубочков подвергались серьезным повреждениям. Они увидели процесс утолщения базальной мембраны, извилистость и даже разрыв. Авторы предполагают, что клубочковый фильтрующий барьер был поврежден при гидронефрозе. Впоследствии, чрезмерная фильтрация белка плазмы приводит к снижению коллоидно-осмотического давления клубочков, после чего больше

внутригломерулярной воды фильтруется через фильтрационный барьер, что может быть связано с уменьшением клубочкового потока плазмы и постгломерулярная ишемией. Кроме того, избыточная концентрация белка в канальцевом просвете вызывает повышенную реабсорбцию канальцев и может быть одним из факторов, приводящих к тубулоинтерстициальному фиброзу [236].

Исследования Кропачева А. Ю. с соавторами указывают на важную роль нарастающего повреждения эпителия проксимальных канальцев в зависимости от сроков обструктивной уropатии. Ультраструктурные изменения в эпителиоцитах у крыс с окклюзией мочевыводящих путей характеризовались повреждением структуры щеточной каймы, базального лабиринта, митохондрий, что свидетельствует о нарушении процессов реабсорбции в проксимальных канальцах в ответ на хронический застой первичной мочи в нефроне. Механизм повреждения эпителиоцитов почечных канальцев при застое мочи может быть также связан с развитием бактериурии и эндотоксикоза [23-24]. Таким образом, как иностранные, так и отечественные авторы приходят к выводам, что при моделировании обструктивной уropатии морфологические изменения обнаруживаются как в клубочках, так и в канальцевом аппарате нефронов, что характеризует различные механизмы реализации компенсаторно-приспособительных процессов в обструктивной почке.

1.3. Роль эпителиально-мезенхимального перехода в патогенезе повреждения почки при обструкции мочевых путей

Вопрос о механизмах прогрессирования хронических заболеваний почек является одним из центральных в современной нефрологии [48]. Внедрение методов молекулярно-биологического исследования позволили по-новому взглянуть на пато- и морфогенез заболеваний почек. В качестве одного из важных путей прогрессии ХБП рассматривается ЭМП, как отражение морфофункциональной пластичности дифференцировки эпителия [11]. ЭМП – это уникальный биологический процесс, который включает в себя четкое

молекулярное перепрограммирование и фенотипические изменения, характеризующиеся переходом от поляризованных эпителиальных клеток к рассеянными мезенхимным клеткам, что приводит к увеличению их подвижности и инвазии [35, 68, 80, 115, 131-132, 145,149, 211, 216-217, 226, 248-252]. ЭМП многие считают вредным механизмом, приводящим к опухолевой инвазии, метастазированию и фиброзу. Значительное число данных указывают на ведущую роль ЭМП в прогрессировании опухоли и фиброзе органов [161, 251]. Однако, существует и другое мнение, согласно которому ЭМП признается необходимым во многих биологических процессах, например, в регуляции эмбриональной дифференцировки стволовых клеток [144].

Понимание происхождения миофибробластов в почках представляет большой интерес, так как эти клетки ответственны за образование рубцов при фиброзе почечной ткани [61, 107]. Миофибробласты – это длительно активированные фибробласты, которые экспрессируют α -гладкомышечный актин (α -SMA), таким образом интерстициальные фибробласты превращаются в миофибробласты [75]. Исследования показывают, что эпителиальные клетки являются важным источником миофибробластов благодаря процессу, описанному как переход от эпителия к мезенхиме [119]. Почечные интерстициальные фибробласты и миофибробласты в основном ответственны за выработку избыточного ВКМ в фиброзной почке. Чем тяжелее степень фиброза, тем больше миофибробластов находится в почке. Согласно мнению LeBleu V.S. с коллегами, 50% миофибробластов при фиброзе почек возникают из локальных резидентных фибробластов, 35% – из костного мозга, 10% – из эндотелиально-мезенхимального перехода и 5% – из эпителиально-мезенхимального перехода [145].

Понятие ЭМП и его обратный процесс – мезенхимально-эпителиальный переход (МЭП) впервые были введены Элизабет Хей [111]. Под ЭМП, согласно современным данным, описан процесс, при котором эпителиальные клетки утрачивают присущие им свойства (межклеточную адгезию и апикально-базальную полярность) и приобретают свойства мезенхимальных клеток

(веретеновидная форма, повышенная миграционная способность, устойчивость к апоптозу и выработка ВКМ) [113, 126, 153]. Репин В.С. в 2006 году в своей работе пишет об обратимости ЭМП и говорит, что чередование эпителиальных и мезенхимальных признаков фенотипа является общей биологической закономерностью в онтогенезе, поэтому данный механизм является физиологическим, функционирующим в норме [36]. ЭМП может быть вызван различными факторами роста и характеризуется потерей поляризации, плотной соединительной целостности и экспрессии E-cadherin. Эпителиальные клетки, подвергающиеся ЭМП, приобретают фибробластический вид, повышенную подвижность и экспрессию Vimentin и α -SMA. Пластичность клеток эпителия обусловлена, главным образом, двумя процессами: метаплазией или трансдифференциацией и клеточной трансформацией [117]. Однако до настоящего времени вопрос, представляет ли собой трансдифференциация переходное состояние остается открытым [4]. В обоих случаях происходит активация «запрещенных к экспрессии» генов. При раздражении мембраны эпителиоцитов происходит нарастание стресс-волокон, синтез сократительных волокон, накопление в клетках лизосом, лизис подлежащей БМ с последующим формированием псевдоподий на мембране эпителиальной клетки, выходом в окружающую межтканевую ткань и началом функционирования данных клеток как фибробластов.

Почка является узкоспециализированным и сложным органом и обладает своеобразной способностью восстанавливать свою функциональность после определенной степени повреждения [140]. Механизмы, лежащие в основе регенеративной способности почек, все еще остаются предметом дискуссий и в качестве одного из таких механизмов рассматривается ЭМП [120, 157]. В патологических условиях ЭМП индуцируется различными факторами микроокружения: гипоксией, факторами роста, цитокинами, АФК (рисунок 1.3.1) [125, 151].

Этот сложный многоступенчатый процесс регулируется многими системами сигнальной трансдукции с вовлечением факторов транскрипции и генными

программами, регулирующими переход клеток от эпителиального фенотипа к мезенхимальному [103]. В связи с этим особый интерес представляет изучение роли ЭМП как одного из возможных механизмов, обеспечивающих прогрессирующий фиброз и атрофию ткани почки, которые лежат в основе развития ХБП [112, 174, 33].

Присутствие миофибробластов можно определить, изучая экспрессию α -SMA и Vimentin [239]. Было показано, что для создания α -SMA-позитивных дифференцированных миофибробластов необходимы три обязательных локальных события: накопление биологически активной формы TGF- β 1, присутствие специализированных белков ВКМ и высокий клеточный стресс, вызванный механическим воздействием [96, 221].

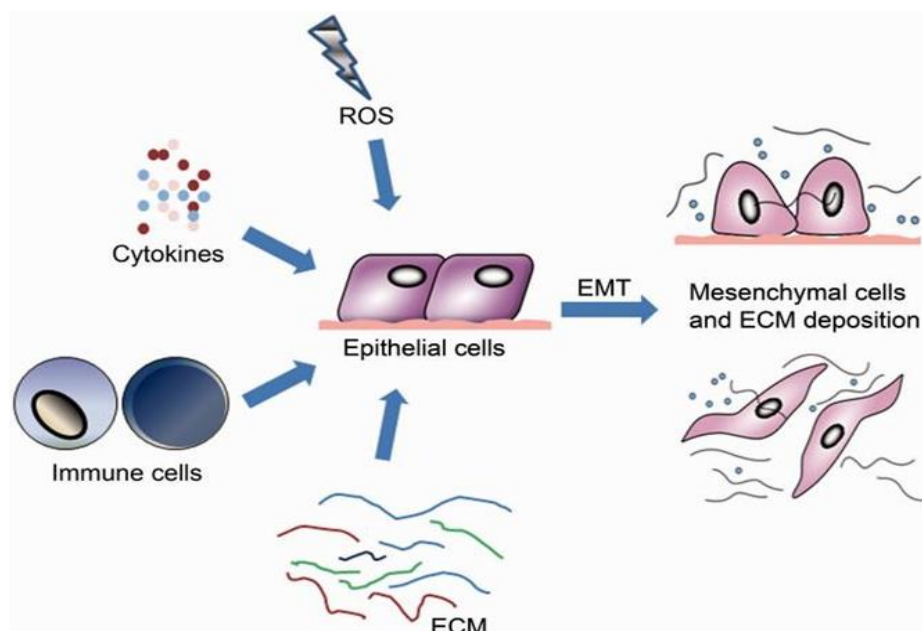


Рисунок 1.3.1 – Схема критических факторов для индукции эпителиально-мезенхимального перехода и процесса фиброза тканей, связанного с ЭМП.

Примечание: ROS – активные формы кислорода, EMT – эпителиально-мезенхимальный переход, ECM – внеклеточный матрикс [Li M., 2016].

Иммуногистохимическое окрашивание ткани обструктивной почки показало увеличение α -SMA-положительных областей, которые прогрессивно увеличивались с возрастанием времени обструкции [60]. Однако, в компенсаторных почках α -SMA-положительная область была ограничена

клетками стенок кровеносных сосудов [69, 197]. В обструктивной почке Vimentin- и α -SMA-позитивные области были обнаружены по всему тубулоинтерстициальному пространству, особенно вокруг перитубулярной и перигломерулярной областей [239]. В физиологических условиях большое количество фибробластов накапливается в местах продолжающегося воспаления и восстановления. В таких условиях фибробласты действуют как репаративные клетки, производят и организуют ВКМ и восстанавливают целостность тканей после повреждения [102]. Однако при патологическом рубцевании фибробласты создают богатый коллагеном жесткий рубец, который нарушает структуру тканей и изменяет биохимическое и биофизическое микроокружение, что приводит к дисфункции ткани [116].

Мембранный белок E-cadherin участвует в адгезии эпителиоцитов и снижение его количества приводит к потере сцепления эпителиальных клеток с БМ [212, 69]. Lee J. с соавторами в своей работе показали, что снижение уровня E-cadherin наблюдается уже на 3-и сутки ОУ и продолжает снижаться с увеличением временем обструкции [148]. Так, одновременное увеличение α -SMA и уменьшение E-cadherin являются показателем того, что эпителиальные клетки подвергаются ЭМП [153].

Первое доказательство ЭМП в ткани почки было показано в исследовании Strutz F. с соавторами. В эксперименте с ООМ на мышах они обнаружили, что клетки эпителия канальцев, подвергшихся фиброзу, экспрессируют специфические для фибробластов белки, что свидетельствует об их фенотипическом превращении [210]. В 2002 году Iwano M. с коллегами показал, что значительная доля фибробластов в почках, подвергшихся изменениям вследствие ОУ, происходила из эпителия почечных канальцев [120]. На функциональном уровне ЭМП означает с одной стороны потерю функции (секреция и абсорбция), с другой усиление функции (фиброгенез) для эпителиальной клетки канальцев нефрона [190].

Ролью ЭМП в прогрессирующей болезни почек занимались исследовательские группы Австралии [68, 212-213], Ирландии [80], США [89,107-

108, 144, 149, 161-162], Китая [113, 151, 178], Кореи [128, 146], Японии [131-132], Канады [191], Италии [90], Германии [139] и Нидерланды [117, 179]. Авторы исследовали происхождение почечных фибробластов и сигналы, которые вызывают фиброз, продемонстрировав в своих экспериментальных работах важность ЭМП, где блокада ЭМП ослабляет почечный фиброз. В совместной экспериментальной работе ученых США и Германии, описано, что функциональным следствием программы ЭМП во время фиброзного повреждения является остановка в фазе G2 клеточного цикла в эпителии канальцев и нарушение регуляции транспортной активности [161].

Несмотря на большое количество работ о роли перехода от эпителия к мезенхиме в патогенезе заболеваний почек, в последнее десятилетие произошла революция в нашем понимании о пластичности клеток почки. Однако, вопрос о роли и степени участия ЭМП в фиброзе почек на сегодня остается открытым, и понимание данного процесса может пролить свет на еще одно звено в патогенезе этого инвалидизирующего процесса.

1.4. Эндогенная интоксикация при обструкции верхних мочевых путей

Исследование, а также выявление потенциальных биомаркеров для ОУ требует глубокого понимания биологических путей, вовлеченных в патогенез этого расстройства. Влияние обструкции на функцию почек является следствием многих факторов, которые глубоко изменяют все компоненты клубочковой функции. Помимо острых эффектов на скорость клубочковой фильтрации и функцию канальцев, хроническая односторонняя непроходимость мочеточника вызывает повреждение тубулярных и интерстициальных клеток, возникающее в результате активации различных путей [163].

Современный алгоритм диагностики патологии почек предусматривает использование клиничко-лабораторных методов по показателям крови, мочи и УЗИ. Общеклинический анализ крови (ОАК) позволяет выявить наличие воспалительного процесса в организме по содержанию лейкоцитов, скорости

оседания эритроцитов, белкам острой фазы и др. Биохимическое исследование дает возможность определить нарушение функций почек по сдвигу границ нормы мочевины, креатинина (маркер нарушения экскреторной функции почек), общего белка, альбумина [1, 25, 39, 186]. Однако у пациентов с односторонней непроходимостью мочеточника уровень креатинина в сыворотке обычно оставался нормальным до тех пор, пока их контралатеральные почки сохраняли свою функцию [106]. Стандартное клиничко-лабораторное обследование не дает возможности в полной мере оценить степень повреждения почек, сделать прогноз осложнений, назначить патогенетически обоснованное лечение. Вопрос поиска дополнительных маркеров, позволяющих оценить не только нарушение функций почек, но и возможности организма в целом адаптироваться к обструктивному процессу, является актуальным на протяжении многих лет [54, 81]. Современные высокотехнологичные методики дают возможность определять в крови пациентов с патологией почек биохимические маркеры поражения паренхимы, такие как эндотелин-1, трансформирующий фактор роста $\beta 1$, эпидермальный фактор роста, канальцевые ферменты [56]. Однако, данный алгоритм обследования не является общедоступным из-за высокой стоимости исследований и требует соответствующего высокотехнологичного приборного оснащения. В связи с этим, использование в клинической практике известных, доступных методов и показателей дополнительного исследования пациентов для дифференциальной диагностики не только не теряет своей актуальности, но и является необходимым условием прогноза течения социально значимых заболеваний [138]. Показатели эндогенной интоксикации (ЭИ) могут использоваться, как для оценки уровня повреждения органа, так и всего состояния организма в целом [2, 18]. Для характеристики почечной недостаточности широко используются показатели метаболических нарушений: содержания в крови молекул средней массы (МСМ) [8-9, 175] и продуктов липоокисления [49]. В литературе широкое распространение получила концепция синдрома ЭИ как процесса в рамках системного (генерализованного) воспалительного ответа, вызванного накоплением биологически активных соединений, которые в нормальных

условиях будут выделяться и/или метаболизироваться почками [20, 66]. Известно, что перенапряжение адаптационных механизмов, срыв компенсации, несбалансированность реакций на биомолекулярном уровне ведут к структурно-метаболическим изменениям, служащим причиной развития нарушений гомеостаза в организме [52].

В модели хронической односторонней непроходимости мочеточника окислительный стресс способствует прогрессированию повреждения почек с ранних стадий. Кроме повышения уровня активных форм кислорода (АФК), после начала ОУ, имеет место повышение маркера перекисного окисления липидов малонового диальдегида (МДА), продукции супероксид-анионов и NAD (P) H-оксидазы (Nox) субъединиц белка [236]. В модели ОУ имеет место активация семейства генов RAS, продуктами которых являются мембраносвязывающие белки, участвующими в передаче сигнала. Они осуществляют один из первых этапов передачи сигнала извне клетки и, как правило, регулируют размножение клеток. Кроме того, активация RAS стимулирует выработку факторов, которые запускают миграцию лейкоцитов и воспалительный процесс [65, 204]. В результате окислительного стресса, активации и стимуляции RAS транскрипционный фактор NF-κB (универсальный фактор транскрипции, контролирующий экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла) транслоцируется в ядро, где NF-κB инициирует транскрипцию генов-мишеней, которые вызывают воспаление и фиброз [55]. При повреждении эпителиальные клетки паренхимы и эндотелия почек выделяют экзосомы, хемокины и цитокины [153]. В ответ макрофаги, лейкоциты (в основном Т-лимфоциты и нейтрофилы) рекрутируются в тубулоинтерстиций. Такая миграция начинается с первого дня ОУ и продолжается на протяжении всего периода обструкции [230]. В модели ООМ макрофаги накапливаются в корковом веществе почки и способствуют воспалению [133].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Экспериментальная модель обструктивного гидронефроза (обоснование выбора экспериментального животного, выбор и описание модели)

Эксперимент с использованием лабораторных животных и других живых объектов является одним из ведущих методов познания в современной медицине, фармакологии, ветеринарии, биологии [16, 46]. Каждый вид животного имеет собственную способность к адаптации, ограниченную физиологией (индивидуальная адаптация), мутационными возможностями, коадаптационными характеристиками внутренних органов и другими видовыми особенностями [196]. При рассмотрении вопроса о правильном выборе экспериментального животного необходимо учитывать анатомические особенности изучаемого органа или ткани, отличительные для каждого вида животных, используемых в современных биомедицинских исследованиях [160, 196].

С 1950 года было опубликовано множество работ, касающихся обструкции мочеточника. Преимущества использования ООМ в качестве модели почечного фиброза включают отсутствие экзогенного токсина, отсутствие «уремической» среды и наличие контралатеральной почки в качестве контроля, однако, не учитывает ее клеточные, метаболические и функциональные почечные компенсаторные изменения в ответ на обструкцию [73]. По этой причине сравнение почечных изменений, вызванных ООМ, следует сравнивать с изменениями у контрольных (ложно оперированных) животных. Хирургические модели ООМ имеют дополнительное преимущество, заключающееся в том, что они позволяют варьировать степень тяжести, время и продолжительность обструкции [75].

На сегодняшний день существует несколько экспериментальных моделей фиброза почек, воспроизводимых на мышах, крысах, кроликах, кошках и даже свиньях [123, 185, 203, 205, 209].

Исследования, в которых кролики использовались как экспериментальная модель для оценки различных заболеваний почек, показали, что этот вид животных является подходящим биологическим объектом для изучения поражения почек [87,152, 154, 160, 195, 243]. Это связано с анатомическим и физиологически-функциональным сходством почки кролика с почкой человека и позволяет оценить важные соматические проявления и параметры органа, а также адаптационные механизмы и патогенетические изменения нефрона при обструкции мочевыводящих путей. С учетом этого настоящее исследование было выполнено на взрослых беспородных кроликах-самцах в возрасте 3,5-4 месяцев, весом 2,4-2,75 кг.

Исследуемых животных содержали в виварии при следующих условиях: температура (20-23°C), двенадцатичасовой цикл смены дня и ночи. Животные имели свободный доступ к пище и воде. Для адаптации кроликов к новым условиям было отведено семь дней до начала активной фазы эксперимента. Экспериментальная модель ООМ на кроликах самцах была выполнена по методике Giamarellors-Bourbalis E. с соавторами описанной в работе «Immunomodulatory Clarithromycin Treatment of Experimental Sepsis and Acute Pyelonephritis Caused by multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*» [105]. Оперативная часть эксперимента состояла из нескольких этапов. Первый этап - животных подвергали седации раствором золетила внутримышечно (15 мг/кг), далее в краевую вену уха внутривенно вводили 1% водную эмульсию пропофола (5,0 мг/кг). Следующий этап – через верхнесрединный абдоминальный разрез длиной 4,0 см вскрывали брюшную полость, кишечник перемещали вправо, после визуализации левого мочеточника, его на 2,5 см дистальнее лоханки окружали нитью и подтягивали к передней брюшной стенке. На заключительном этапе оба конца нити проводили через переднюю брюшную стенку наружу и завязывали на коже. Модель механической обструкции (рисунок 2.1.1) воспроизводили на 27

взрослых кроликах. Животные были разделены на 4 группы: контрольная (n=9) и три опытных группы: I группа – механическая обструкция сроком 7 суток (n=6), II группа – механическая обструкция сроком 14 суток (n=6), III группа – механическая обструкция сроком 21 сутки (n=6). В качестве контроля была использована группа ложно оперированных кроликов, которых наркотизировали, проводили абдоминальный разрез брюшной полости, однако перевязку мочеточника не осуществляли.

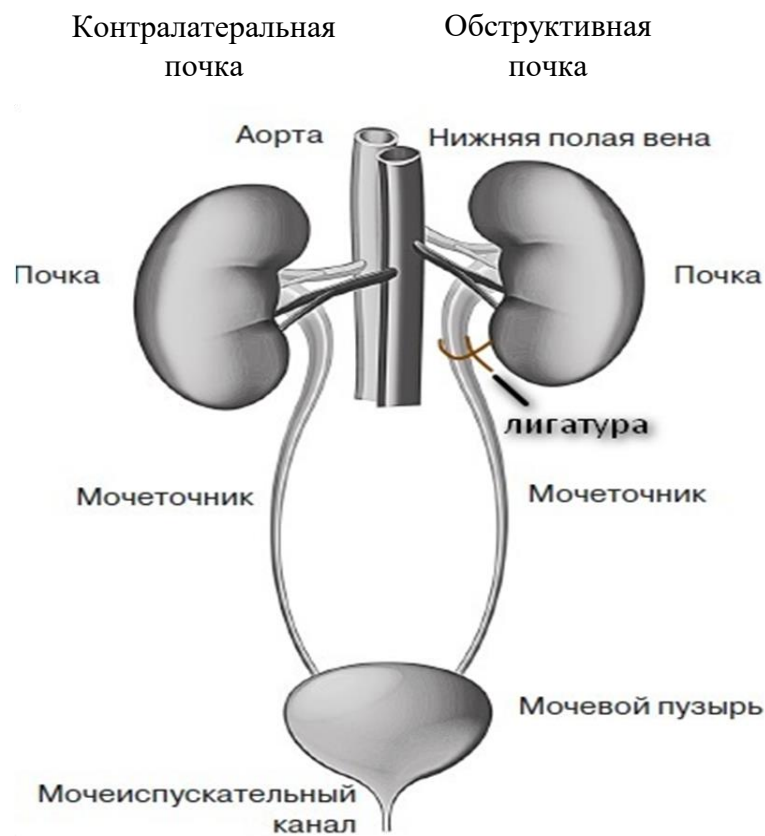


Рисунок 2.1.1 – Модель механической обструкции левого мочеточника (схема эксперимента).

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 и проводили вскрытия на 7, 14 и 21 сутки.

Содержание, питание, уход за животными и выведение из эксперимента выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей, Федерацией европейских ассоциаций по науке о лабораторных животных и Международным советом по науке о лабораторных животных. Исследования были разрешены локальным независимым этическим комитетом ФГБОУ ВО РостГМУ.

В заключение, использование моделей ООМ на животных позволило значительно приблизиться к пониманию патогенеза обструктивной уропатии и прогрессирующего фиброза почек в целом. Модель уже выявила важные для практики биомаркеры тяжести заболевания, прогрессирования и реакции на терапию, и вполне вероятно, что применение новых технологий обеспечит их полезность в будущем, в первую очередь для определения эффективности лечения для устранения фиброза.

2.2. Общеклинические и биохимические методы исследования

Для гематологических и биохимических исследований у животных брали кровь из краевой ушной вены на 3, 7, 14 и 21 сутки эксперимента в вакуумные пробирки. Биохимические и общеклинические исследования периферической крови проводили с использованием общепринятых методик.

В сыворотке крови определяли следующие гематологические показатели: лейкоциты (лимфоциты, моноциты, гранулоциты), эритроциты, гемоглобин, гематокрит, тромбоциты. Гематологические показатели периферической крови определяли на автоматическом анализаторе ХТ-4000i (SYSMEX, Japan), используя флуоресцентную проточную цитометрию для высококачественного анализа клеток крови.

Биохимические исследования периферической крови проводили на автоматическом биохимическом анализаторе ARCHITECT c8000 (Abbott, USA). В сыворотке крови определяли следующие биохимические показатели: мочевины

(набор Urea Nitrogen for use with ARCHITECT, Abbott Laboratories Diagnostics USA), креатинин (набор Creatinine for use with ARCHITECT, Abbott Laboratories Diagnostics USA), общий белок (набор Total Protein for use with ARCHITECT, Abbott Laboratories Diagnostics USA), альбумин (набор Albumin BCG for use with ARCHITECT, Abbott Laboratories Diagnostics USA).

Уровень эндогенной интоксикации оценивали по содержанию молекул средней массы, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) и малонового диальдегида. Измерение показателей ЭИ проводили на спектрофотометре U-2900 (Hitachi, Japan), используя методику с модификациями для детекции молекул средней массы при трех длинах волн: 254 нм (непептидная токсическая фракция), 260 нм (фракция нуклеиновых кислот) и 280 нм (пептидная ароматическая фракция). Определение содержания молекул средней массы используют для оценки степени ЭИ, обусловленной повышенным накоплением в биологических жидкостях продуктов патологического обмена веществ и недостаточностью их элиминации из организма. Уровень МСМ, как маркеров интоксикационного синдрома, может служить прогностическим критерием тяжести заболевания и присоединения осложнений [8, 29].

Метод определения ЦИК заключается в одновременной оценке концентрации и размера иммунных комплексов, и основан на способности полиэтиленгликоля (ПЭГ) разной концентрации преципитировать иммунные комплексы, имеющие различную молекулярную массу. Чем больше размер иммунных комплексов, тем меньшая концентрация ПЭГ требуется для их преципитации. Данный метод основан на селективной преципитации комплексов антиген-антитело раствором полиэтиленгликоля М-6000 определенной концентрации (для больших иммунных комплексов (БИК) – 3,75%, для малых иммунных комплексов (МИК) – 7,7%) с последующим фотометрическим определением плотности преципитата при длине волны (λ) 450 нм [13, 26].

В основе метода определения концентрации вторичных продуктов перекисного окисления липидов, а именно малонового диальдегида (МДА), лежит реакция между МДА и другими низкомолекулярными диальдегидами,

образующимися в результате разрушения эндопероксидов полиненасыщенных жирных кислот и тиобарбитуровой кислотой (ТБК), протекающая при высокой температуре и кислом значении pH с образованием окрашенного триметинового комплекса, содержащего одну молекулу диальдегида и две молекулы ТБК, с максимумом поглощения при 532 нм. В работе использовалась модификация метода с определением скорости базального и спонтанно-активированного уровня ТБК [47].

Забор мочи для общего анализа (ОАМ) осуществляли на 7, 14 и 21-е сутки эксперимента в специальные одноразовые контейнеры. ОАМ включал в себя оценку физических свойств, таких как цвет, прозрачность, относительная плотность; исследование химического состава мочи и микроскопию осадка мочи. Исследование мочи проводили на автоматическом анализаторе мочи Urisys 2400 (Roche, Germany). Химические параметры, определяемые в моче: pH, наличие гемоглобина, глюкозы, кетоновых тел, белка и билирубина. А также проводилось микроскопическое исследование осадка мочи (органического и неорганического) и заключалось в описании встречаемых клеток эпителия, эритроцитов, лейкоцитов, цилиндров и микрофлоры.

2.3. Морфологические методы исследования

Морфологические исследования обструктивной и контралатеральной почек проводили на 7, 14 и 21 сутки эксперимента. Контролем служили интактные почки животных. При макроскопии проводилась регистрация параметров органа (высота, ширина, толщина), размеры чашечек и лоханки, а также толщины почечной паренхимы. Оценка основных патологических процессов в различных отделах нефрона и почечном интерстиции осуществлялась при гистологическом и морфометрическом исследованиях. Для гистологического исследования орган помещался в герметичный контейнер и заливался фиксирующим реагентом – 10% раствором нейтрального забуференного формалина (10 % NBF). Далее вырезались образцы ткани, размером 1,5 x 1,5 см и не более 0,3 – 0,5 см толщиной,

фиксируются не менее 24 часов в 10% NBF. Гистологическая проводка осуществлялась в автоматическом вакуумном гистологическом процессоре ASP6025 (Leica, Germany). После проводки образцы ткани заключались в парафин с использованием заливочной станции EG1150H (Leica, Germany). На ротационном микротоме RM2245 (Leica, Germany), из парафиновых блоков с образцами ткани, изготавливали серийные срезы толщиной 3 – 5 мкм, наносили их на предметные стекла с адгезивным покрытием (Menzel-Glaser). Полученные срезы образцов ткани окрашивали гематоксилином и эозином, по классическому протоколу.

Были использованы гистохимические методы окраски: PAS-реакция, P.A.S.M. Метенамин-серебро. Окрашивание периодической кислотой Шиффа (PAS-реакция) использовалось для оценки гистологических изменений, особенно гломерулосклероза, объема клубочков, а также количества канальцев и степени их разрушения [70, 212]. С помощью этой гистохимической окраски оценивалось состояние эпителия проксимальных и дистальных извитых канальцев и степень их атрофии, состояние стенок кровеносных сосудов. При PAS-реакции позитивно окрашиваются базальные мембраны клубочков, канальцев и стенок сосудов, мезангиальный матрикс, щеточная кайма эпителия проксимальных извитых канальцев, а также большинство белковых депозитов [44]. P.A.S.M. Метенамин-серебро используется с целью выявления аргирофильных элементов и мукополисахаридов (базальные мембраны, грибы, бактерии) в тканях. Рекомендован для оценки базальной мембраны в материалах биопсии почек [92, 97].

Гистологические стекла с образцами ткани исследовали с использованием светового микроскопа (Leica DM1000, Germany).

2.4. Морфометрические методы исследования

Гистологические препараты обструктивной и контралатеральной почек, окрашенные гематоксилином и эозином, сканировали на сканере гистопрепаратов

Aperio CS2 с увеличением в 40 раз. На полученных изображениях в программе Aperio ImageScope v. 12.4.0 при помощи встроенных инструментов и шкалы измеряли площади почечного тельца, сосудистого клубочка, проксимального, дистального извитых канальцев и восходящей части петли Генле, их просвета, высоту эпителиоцитов в указанных частях нефрона. За площадь мочевого пространства принимали разницу между площадями почечного тельца и сосудистого клубочка. Диаметры всех структур вычисляли по формуле $2\sqrt{S/3,14}$, так как их форма редко соответствовала правильной окружности. На каждом срезе делали по 10 измерений.

2.5. Молекулярно-биологические методы исследования

Иммуногистохимия (ИГХ) – это метод визуализации специфических антигенов в тканях, основанный на распознавании антигена соответствующим антителом и выявления результатов этого связывания на светооптическом уровне [143]. Иммунофенотипирование образцов ткани почки, полученных в эксперименте, проводили на маркеры адаптационных изменений в структуре нефрона (эпителиального фенотипа (цитокератины 7 (CK7) и E-cadherin), мезенхимального фенотипа (Vimentin (Vim), α -гладкомышечный актин (α -SMA)). В качестве первичных антител использовали моноклональные мышиные антитела (только для исследовательских целей): цитокератин 7 (1:200, Biorbyt (orb607957), United Kingdom), E-cadherin (1:100, Biorbyt (orb213706), United Kingdom), α -гладкомышечный актин (1:400, Biorbyt (orb389239), United Kingdom), Vimentin (1:200, Biorbyt (orb18278), United Kingdom).

Образцы ткани почек для иммуногистохимического исследования фиксировали 10% NBF и заключали в парафин по классической методике. Из парафиновых блоков с образцами ткани, изготавливали серийные срезы толщиной 2-3 мкм и наносили на предметные стекла с поли-L-лизинным покрытием (Menzel – Glaser Polysine). Иммунофенотипирование образцов ткани почки, полученных в эксперименте, проводили с использованием автоматической

платформы для проведения ИНС и ISH исследований BOND-MAX (Leica, Germany).

Заключительный этап протокола ИГХ – интерпретация результатов, посредством световой микроскопии. Результаты реакций оценивали полуколичественным методом, с учетом уровня диссоциации в количестве окрашенных клеток и интенсивности окрашивания по каждому маркеру отдельно.

2.6. Методы статистической обработки результатов исследования.

Все полученные данные подвергали статистической обработке с использованием методов описательной статистики. Для каждой группы вычисляли нормальность распределения, среднее арифметическое каждого параметра, ошибку средней, среднеквадратичное отклонение. Сравнение медиан количественных показателей экспериментальных групп с контрольной проводилось с помощью теста Манна-Уитни. Различия признавались статистически значимыми на уровне $p \leq 0,05$. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью статистического пакета R (версия 3.2, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

ГЛАВА 3. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Оценка соматического состояния, изменения общеклинических показателей крови и мочи кроликов в динамике односторонней обструкции мочеточника

Оценка общесоматического состояния экспериментальных животных проводилась по следующим показателям: двигательная активность, реакция на звуковой и болевой раздражитель, пищевое и питьевое поведение, наличие озноба и диареи. Ежедневно проводили измерение ректальной температуры для отслеживания динамики физиологического состояния организма. Данные каждого животного вносили в таблицы в течение всего срока эксперимента.

Одним из основных показателей функциональности и здоровья животного является температура тела. Известно, что этот показатель у кроликов подвержен значительным колебаниям в зависимости от температуры окружающей среды. При значениях воздуха плюс 20 – 23°C (средний показатель на период эксперимента) температура тела кроликов в норме в контрольной группе составляла соответственно 37,5 – 38°C. В послеоперационный период у животных отмечалась тенденция к подъёму температуры в течение часа после создания обструкции мочеточника. К концу первых суток температура повышалась в диапазоне 38,2 – 39°C, оставаясь на таком уровне в течение шести суток. Максимальное значение (39,2°C) ректальной температуры было зарегистрировано на шестые сутки. Повышенные, по сравнению с нормой, температурные показатели регистрировались на всём протяжении эксперимента.

Следует отметить, что значительных изменений общего состояния животных (пищевое и питьевое поведение) в течение первой недели эксперимента не наблюдалось. Незначительные признаки адинамии (упадок сил, мышечная слабость, сопровождающиеся уменьшением двигательной активности) и озноба были зафиксированы у экспериментальных групп на шестые – седьмые сутки, то

есть в сроки максимального повышения температуры тела. Симптоматика анорексии и диареи регистрировалась в единичных случаях на 14 сутки с последующим нарастанием к 21 суткам ООМ (II и III группа экспериментальных животных).

Таким образом, можно говорить, что состояние экспериментальных животных отражает динамику формирования адаптационно – компенсаторных реакций организма на обструкцию мочеточника. Так в первую неделю ООМ виден закономерный ответ на оперативное вмешательство. Однако, по мере увеличения срока обструкции к 14 суткам эксперимента появляются признаки адаптации, которые постепенно сменяются соматическими нарушениями.

Колебания гематологических показателей крови при патологическом процессе в мочевыделительной системе, в том числе при обструктивных уропатиях, могут указать на усугубление течения заболевания. Общий анализ крови может выявить наличие воспалительного процесса в организме по таким показателям, как повышенное содержание лейкоцитов, СОЭ (скорость оседания эритроцитов), белки острой фазы и др. По характеру изменения морфологического состава крови можно оценить степень адаптации организма к обструктивному процессу.

В сыворотке крови определяли следующие показатели: лейкоциты (лимфоциты, моноциты, гранулоциты), эритроциты, гемоглобин, гематокрит, тромбоциты.

Результаты исследования позволили установить динамику изучаемых показателей при развитии гидронефроза, вызванного обструкцией почки (таблица 3.1.1). Сравнение медиан количественных показателей у экспериментальных групп и контрольной группы позволило выявить значимые различия ($p \leq 0,05$) на всех сроках эксперимента.

Таблица 3.1.1 – Изменение показателей крови у контрольных (ЛО) и экспериментальных животных в динамике ООМ.

Показатель, кровь	3 сутки		7 сутки		14 сутки		21 сутки	
	ЛО	ООМ	ЛО	ООМ	ЛО	ООМ	ЛО	ООМ
Лейкоциты, норма 2,6-9,9 тыс/мкл)	8,38 [8,2;9,1]	8,9 [8,21;9,33]	8,41 [8,36;8,58]	8,77 [8,18;9,12]	8,18 [7,61;8,35]	9,27* [8,69;9,51]	7,96 [7,71;8,22]	10,38* [10,15;11,14]
Лимфоциты, норма 25-85 %	38,0 [36,0;40,0]	38,0 [35,75;38,25]	39,0 [37,0;39,0]	38,0 [37,0;40,0]	39,0 [37,5;40,5]	50,0* [49,0;51,0]	39,0 [38,0;40,0]	57,0* [55,5;58,5]
Тромбоциты, норма 130-900 тыс/мкл	478,0 [455,0;493,0]	487,0 [455,75;512,25]	437,0 [422,0;450,0]	464,0 [434,25;478,25]	417,0 [396,5;426,5]	412,0 [410,0;423,0]	325,0 [313,0;347,0]	362,0* [357,0;370,0]
Моноциты, норма 2-10%	6,0 [5,0;6,0]	5,5 [4,0;6,25]	6,0 [6,0;8,0]	7,5 [5,0;9,0]	8,0 [6,5;8,0]	9,0* [8,0;10,0]	8,0 [7,0;8,0]	9,0* [9,0;9,75]
Эритроциты, норма 5,2-7,8 млн/мкл	4,83 [4,76;5,33]	4,78 [4,53;4,97]	6,33 [6,26;6,75]	4,94* [4,7;5,14]	6,54 [6,38;6,74]	6,01* [5,71;6,13]	6,4 [6,37;6,73]	6,57 [6,38;6,66]
Гемоглобин, норма 105-160 г/л	92,0 [89,0;97,0]	87,0 [78,75;92,5]	94,0 [89,0;105,0]	90,5 [86,0;96,0]	117,0 [112,5;119,5]	112,0 [109,0;116,0]	128,0 [127,0;130,0]	123,5 [121,5;127,75]
Гематокрит, норма 35,0-48,0 %	27,4 [26,73;28,7]	27,09 [26,22;28,02]	37,78 [37,56;38,8]	30,25* [29,22;30,98]	39,25 [38,68;40,06]	34,5* [32,4;35,4]	39,37 [39,21;39,54]	38,1* [38,02;38,25]
СОЭ, норма 1-3 мм/ч	2,0 [2,0;3,0]	3,0 [2,0;3,0]	2,0 [1,0;2,0]	3,0* [2,0;3,0]	1,0 [1,0;2,0]	3,0* [2,0;3,0]	1,0 [1,0;2,0]	3,0* [2,25;3,0]
Общий белок, норма 54-75г/л	52,0 [50,5;54,5]	49,45 [48,88;50,22]	55,0 [53,0;57,0]	52,05* [51,22;52,88]	60,0 [57,5;61,5]	56,0* [54,7;56,0]	64,0 [63,0;65,0]	60,5 [59,25;62,5]
Альбумин, норма 27-	32,0	33,0	34,0	28,8 *	34,0	24,0*	35,0	28,5*

46г/л	[31,0;33,0]	[29,83;33,65]	[33,0;35,0]	[25,72;30,85]	[33,5;36,5]	[22,0;26,0]	[35,0;36,0]	[28,0;29,0]
Креатинин, норма 44,2-141,4 ммоль/л	137,0 [134,2;140,0]	143,5* [140,0;146,25]	121,3 [119,2;122,4]	128,3* [126,12;131,1]	106,3 [103,7;112,0]	106,3 [102,2;112,9]	102,2 [101,5;102,8]	126,15* [120,95;131,2]
Мочевина, норма 4,6-10,4 ммоль/л	8,3 [8,05;8,7]	8,8 [8,17;9,15]	7,6 [7,38;8,3]	8,75* [7,82;9,25]	7,38 [7,36;7,56]	5,9* [5,7;6,2]	7,67 [6,61;7,75]	5,95* [5,75;6,07]
БИК	8,0 [8,0;9,0]	6,5* [6,0;7,0]	16,0 [15,0;17,0]	11,0* [10,0;12,0]	20,0 [19,0;20,0]	12,0* [12,0;13,0]	20,0 [19,0;20,0]	26,5* [26,0;27,75]
МИК	33,0 [32,0;33,0]	38,0* [36,75;39,0]	32,0 [32,0;33,0]	43,5* [41,5;44,5]	32,0 [32,0;33,0]	73,0* [71,0;76,0]	32,0 [32,0;33,0]	87,0* [84,0;87,0]
МДА, нмоль/мл	5,86 [5,7;6,16]	15,36* [14,93;15,96]	2,36 [2,28;2,46]	17,9* [17,1;18,78]	2,28 [2,26;2,39]	12,88* [12,26;13,03]	2,28 [2,26;2,31]	14,44* [14,04;14,71]
МСМ, усл.ед. 254 нм	16,7 [16,4;17,0]	30,7* [29,05;31,02]	16,1 [15,9;16,3]	26,55* [25,92;27,52]	16,1 [15,9;16,15]	25,3* [24,5;26,4]	16,2 [15,9;16,2]	36,0* [35,0;36,25]
МСМ, усл.ед. 260 нм	19,0 [18,8;19,1]	33,75* [32,6;34,82]	16,7 [16,4;16,9]	28,65* [27,55;29,6]	16,9 [16,85;17,05]	27,6* [26,4;28,3]	16,6 [16,5;16,7]	36,1* [35,82;36,45]
МСМ, усл.ед. 280 нм	15,7 [14,0;16,0]	34,75* [34,28;35,25]	14,0 [13,8;15,5]	26,1* [25,25;27,05]	14,3 [13,8;14,5]	31,6* [30,1;32,1]	14,2 [13,9;14,3]	33,7* [33,02;34,15]

Примечание: в таблице средние значения представлены в виде медианы [нижний квартиль; верхний квартиль].

Сравнение медиан осуществлялось с помощью теста Манна-Уитни; * – обозначены статистически значимые изменения в сравнении с контрольной группой (ЛО)

В ранний послеоперационный период (третьи и седьмые сутки) наблюдалось закономерное повышение количества тромбоцитов и в контрольных и в опытных группах (таблица 3.1.1). Эти изменения носят обоснованный характер, поскольку тромбоциты играют важную роль в процессе свертывания (гемостаза) крови и регенерации поврежденных сосудов после оперативного вмешательства.

На третьи сутки ООМ в обеих группах регистрировалось снижение следующих гематологических показателей: эритроцитов, гемоглобина, гематокрита и моноцитов в крови, что также явилось результатом кровопотери при введении животных в эксперимент. Подтверждение данного заключения – снижение гематокрита, как показателя процентного соотношения отдельных элементов крови (эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов) к ее жидкой части (плазме). Изменение гематокрита в этот период, а именно его снижение, с одной стороны, связано с гиповолемией (уменьшением объема циркулирующей крови) вследствие перенесенного оперативного вмешательства, с другой стороны с уменьшением клеточного состава крови.

На 7 сутки эксперимента значительных изменений в изучаемых показателях не отмечалось, на что указывает сохранение у животных анемии и лейкопении. Наряду с этим, отмечалось повышение содержания моноцитов, что говорит об активации фагоцитарного звена иммунной защиты и о начале адаптационного периода.

На 14 сутки у животных контрольной группы полностью восстановились показатели общего состояния, ОАК, ОАМ и неспецифические маркеры воспаления до значений видовой нормы. У кроликов экспериментальной группы общее состояние без выраженного ухудшения, однако отмечалось снижение аппетита, у некоторых животных появилась диарея. На фоне относительного общесоматического благополучия в ОАК отмечалось повышение содержания в крови лейкоцитов (моноцитов и лимфоцитов), эритроцитов, гемоглобина и гематокрита, а также имело место снижение количества тромбоцитов по сравнению с 7 сутками эксперимента (таблица 3.1.1). Эти изменения

свидетельствуют о формировании к 14 суткам ООМ компенсаторных механизмов как со стороны кроветворной, так и со стороны иммунной систем лабораторного животного.

На 21 сутки ООМ общее состояние кроликов ухудшалось, нарастала симптоматика анорексии и диареи. В ОАК отмечалось увеличение фракции лейкоцитов за счет значительного повышения популяции лимфоцитов, повышение количества эритроцитов, дальнейшее снижение количества тромбоцитов, в сравнении с 7 и 14 сутками (таблица 3.1.1), что указывает на активацию иммунных механизмов защиты организма экспериментальных животных, с одной стороны, и проявление признаков воспаления с другой. Количество тромбоцитов уменьшилось в сравнении с предшествующими сроками эксперимента. К 21 суткам ООМ практически все исследуемые показатели ОАК в экспериментальной группе вернулись в границы физиологической нормы для данного вида лабораторного животного, что отражает адаптационные возможности кроветворной, иммунной систем и организма в целом.

Биохимическое исследование крови дает возможность определить степень проявления воспалительных процессов и тяжесть течения патологического процесса по сдвигу от границ нормы таких показателей как мочевины, креатинин (маркер нарушения экскреторной функции почек), общий белок, альбумин, а также по накоплению продуктов эндогенной интоксикации: молекул средней массы, циркулирующих иммунных комплексов и малонового диальдегида.

Результаты исследования позволили установить динамику изучаемых показателей при развитии гидронефроза, вызванного обструкцией почки. Так в ранний послеоперационный период наблюдались изменения, вызванные оперативным вмешательством и гиповолемией. Хирургическая травма привела к закономерному повышению содержания мочевины и креатинина, уровень этих веществ достиг верхней границы нормы на третьи и седьмые сутки эксперимента (таблица 3.1.1). Изменения этих показателей у опытной группы в последующие сроки эксперимента связаны с нарушением мочевыводящей функции и отражают ответ организма на обструкцию почки.

Мочевина является одним из гомеостатических показателей организма и уровень ее содержания в крови – важный индикатор того, насколько эффективно почки справляются с выделительной функцией. Уровень мочевины у экспериментальной группы снижался на 14 сутки, достигая минимальных значений к концу эксперимента. Поскольку мочевина является одним из конечных продуктов азотистого метаболизма, то снижение ее концентрации, очевидно, связано с низким содержанием альбумина в крови кроликов в течение всего эксперимента (таблица 3.1.1).

Креатинин является конечным продуктом белкового обмена, который из организма выводится почками с мочой, поэтому его количество в крови – важный показатель деятельности почек. Значимые изменения этого показателя отмечались на 3, 7 и 21 сутки ООМ, когда уровень креатинина в крови экспериментальных животных был выше относительно контроля на 5%, 6% и 23% соответственно (таблица 3.1.1). На 14 сутки цифры данного показателя были в диапазоне контрольных значений, однако к 21 суткам повторно отмечалась тенденция повышения уровня креатенина.

На 3 – 7 сутки ООМ в крови животных фиксировалось снижение содержания общего белка и альбумина до нижних границ нормы. Очевидно, данные изменения связаны с активным использованием альбуминов крови для поддержания белкового обмена на время восстановления гемостаза и заживления операционной раны. В более поздние сроки содержание общего белка в крови животных постепенно увеличивалось (до 60,5 г/л) и находилось в границах нормы на 21 сутки. Тенденция снижения количества альбумина в крови опытных групп сохранялась до 14 суток, а далее напротив менялась в сторону плавного увеличения к 21 суткам (таблица 3.1.1). Есть основания полагать, что эти события связаны с увеличением глобулиновой фракции, на что косвенно указывает повышение содержания циркулирующих иммунных комплексов, как БИК (рисунок 3.1.1), так и МИК (рисунок 3.1.2). Наиболее заметные изменения отмечались в содержании фракции МИК, уровень которой повышался с 38 усл.ед. (3 сутки) до 87 усл.ед. (21 сутки) (таблица 3.1.1, рисунок 3.1.2).

Циркулирующие иммунные комплексы состоят из специфических иммуноглобулинов, компонентов комплемента и антигена, большая часть ЦИК выводится через почки, печень и селезенку, остальная захватывается и переваривается фагоцитами. Если фагоциты и органы выведения не справляются со своими функциями в полной мере, то происходит накопление ЦИК в тканях и органах, в частности, в почечных клубочках, что приводит к повреждению ткани почки и развитию воспаления.

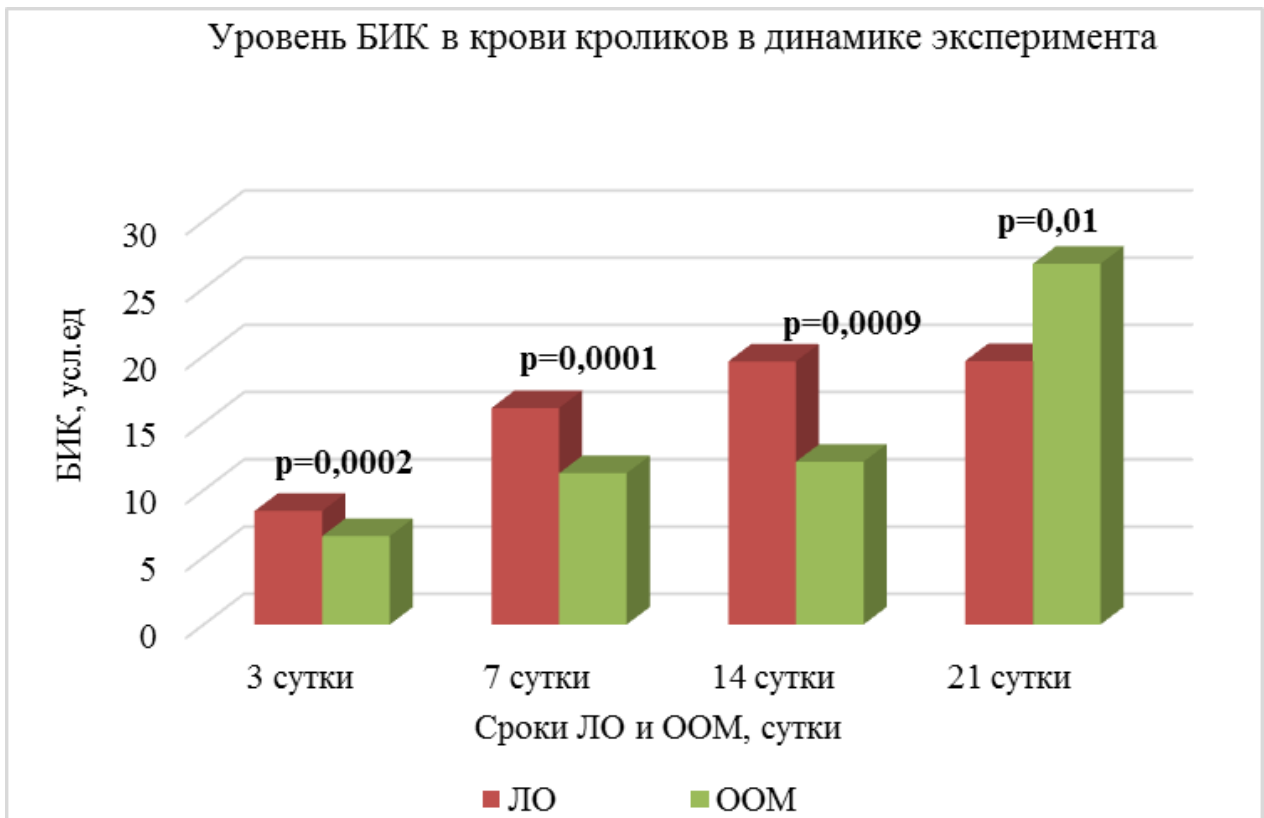


Рисунок 3.1.1 – Содержание БИК в крови кроликов в динамике ООМ.

Примечание: **p** – обозначены статистически значимые изменения в сравнении с контрольной группой (ЛО).

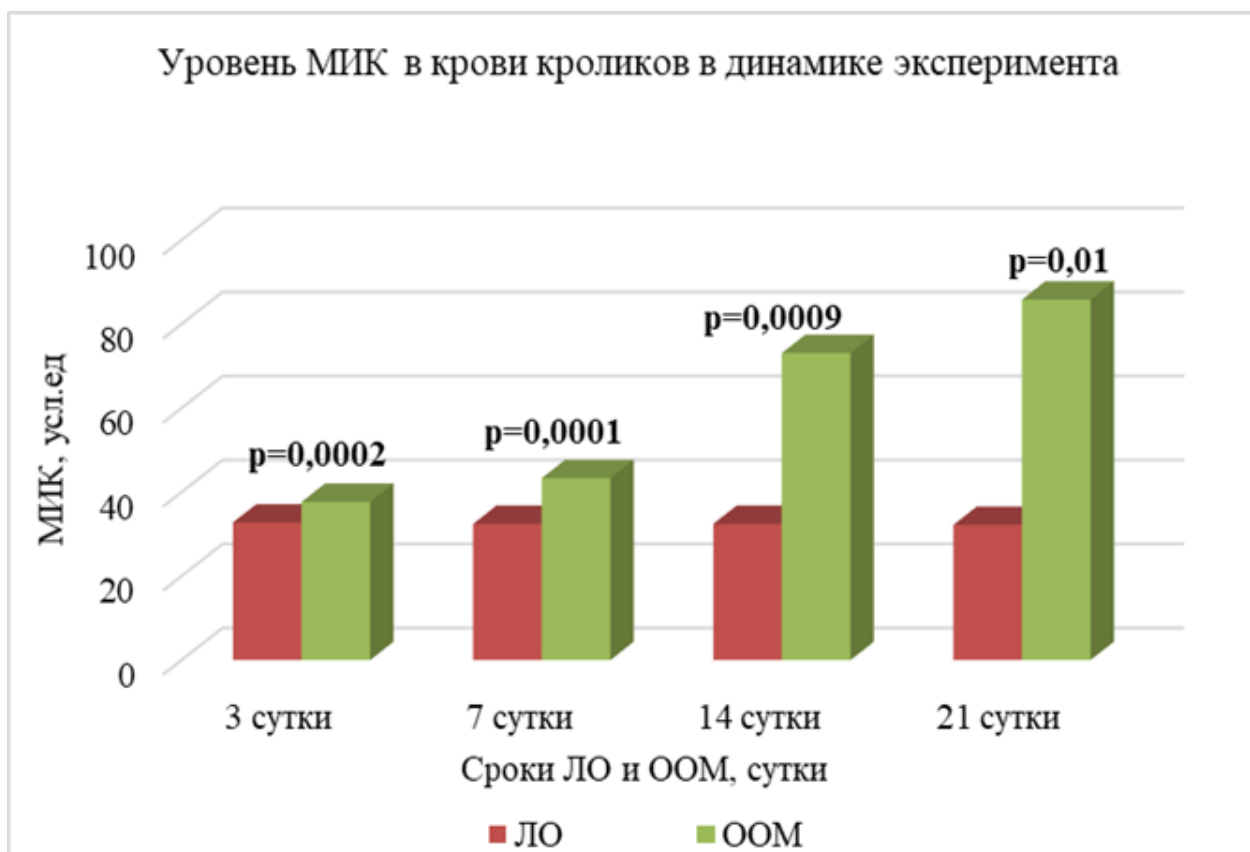


Рисунок 3.1.2 – Содержание МИК в крови кроликов в динамике ООМ.

Примечание: **p** – обозначены статистически значимые изменения в сравнении с контрольной группой (ЛО).

Фракция МИК выводится из организма через почки и прогрессивное нарастание ее содержания в крови кроликов связано с нарушением нормального функционирования этих органов. Другим фактом, подтверждающим нарушение выводящей функции почки, служит повышение содержания эндогенных продуктов интоксикации – молекул средней массы. Обладая относительно небольшой молекулярной массой, в норме МСМ удаляются из организма почками путем клубочковой фильтрации. При нарушении этих процессов происходит накопление молекул средней массы в организме, что используется для диагностики и оценки тяжести поражения почек. В динамике эксперимента наиболее выраженное повышение данного показателя (в два раза) отмечалось на 3 сутки ООМ (таблица 3.1.1, рисунок 3.1.3, рисунок 3.1.4, рисунок 3.1.5). Особенность МСМ заключается в их высокой биологической активности, они

оказывают цитотоксическое и иммунодепрессивное действие (угнетение фагоцитарной активности лейкоцитов).

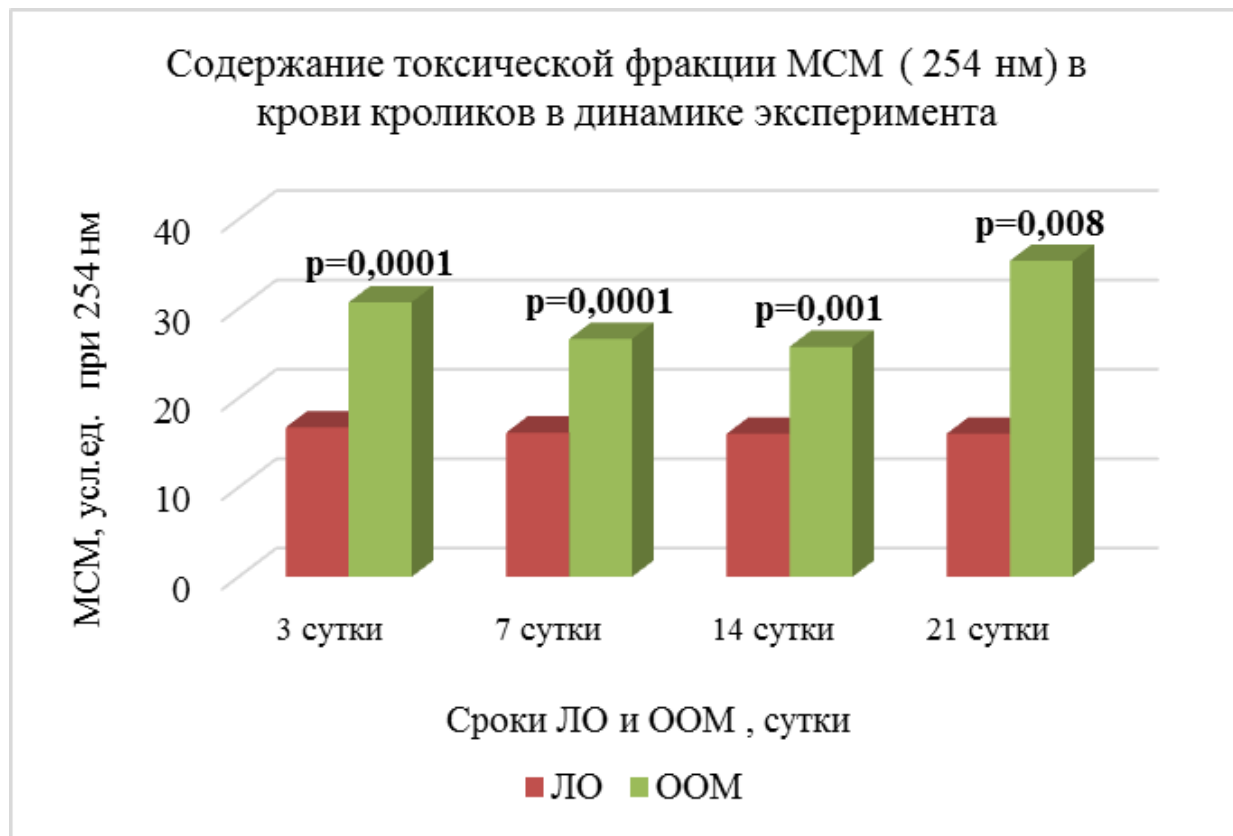


Рисунок 3.1.3 – Содержание МСМ (254 нм) в крови кроликов в динамике ООМ.

Примечание: **p** – обозначены статистически значимые изменения в сравнении с контрольной группой (ЛО).

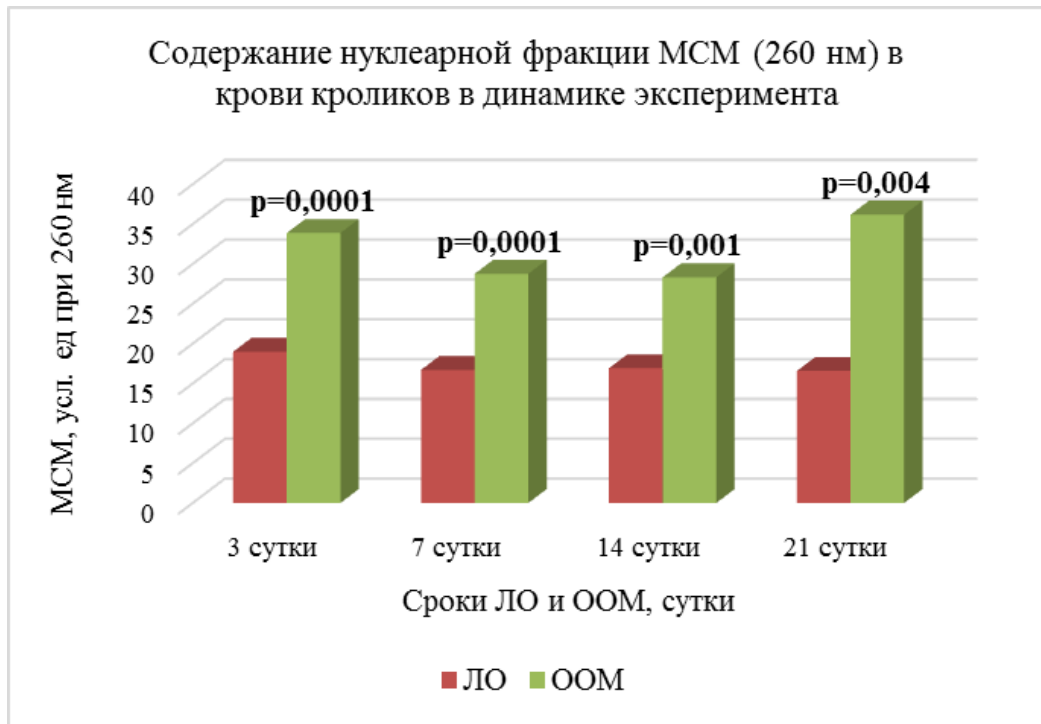


Рисунок 3.1.4 – Содержание МСМ (260 нм) в крови кроликов в динамике ООМ. *Примечание:* **p** – обозначены статистически значимые изменения в сравнении с контрольной группой (ЛО).

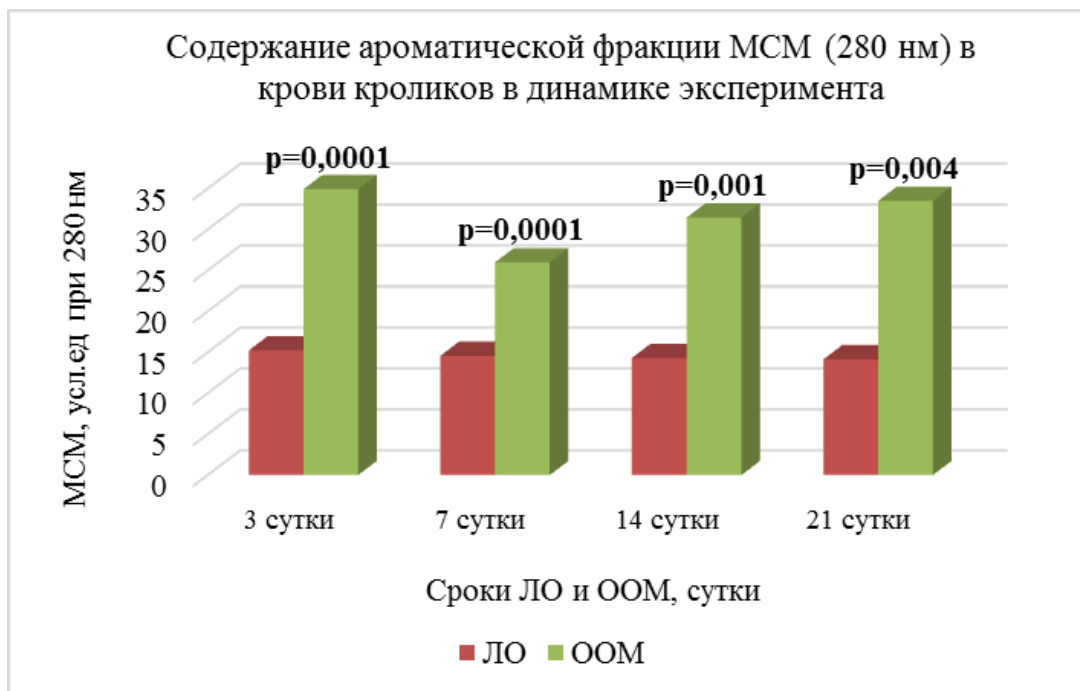


Рисунок 3.1.5 – Содержание МСМ (280 нм) в крови кроликов в динамике ООМ. *Примечание:* **p** – обозначены статистически значимые изменения в сравнении с контрольной группой (ЛО).

Токсическая фракция определяется при $\lambda 254$ нм, состоит из гидрофобных токсинов, обладающих высоким сродством к биологическим структурам и содержит небелковые продукты различной природы. Нуклеарная фракция (260 нм) представлена продуктами разрушения нуклеопротеидов. Ароматическая фракция определяется при $\lambda 280$ нм и состоит из продуктов неполного распада белков, содержащих ароматические аминокислоты. Зарегистрировано повышение содержания МСМ всех трех фракций, что указывает на повреждение цитоплазматических, мембранных и ядерных компонентов клетки. Накопление МСМ является не только маркером эндотоксикации, но и фактором, усугубляющим течение патологического процесса – приобретая роль вторичных токсинов, они вызывают нарушение гистогематического барьера, ингибируют митохондриальные процессы окисления, нарушают транспорт веществ через мембрану.

По современным представлениям окислительный стресс является универсальным механизмом повреждения клеток. К числу наиболее токсичных продуктов свободнорадикального окисления для клеточных компонентов относится малоновый диальдегид [10]. Значительное увеличение МДА регистрировалось на 3 и 7 сутки эксперимента – 15,36 нмоль/мл и 17,9 нмоль/мл, что в 2,6 и в 7,6 раз больше чем в контрольных группах соответственно в этот срок эксперимента. Эти данные говорят о высокой активности свободнорадикального окисления в тканях обструктивной почки (рисунок 3.1.6). На 14 сутки отмечалось снижение содержания МДА в крови кроликов по сравнению с ранним послеоперационным периодом, однако к 21 суткам снова наблюдалось незначительное увеличение МДА в сравнении с предыдущим сроком ООМ. К 14 суткам очевидно проявление компенсаторных процессов, обеспеченных усилением выделительной функций за счет контрлатеральной почки.

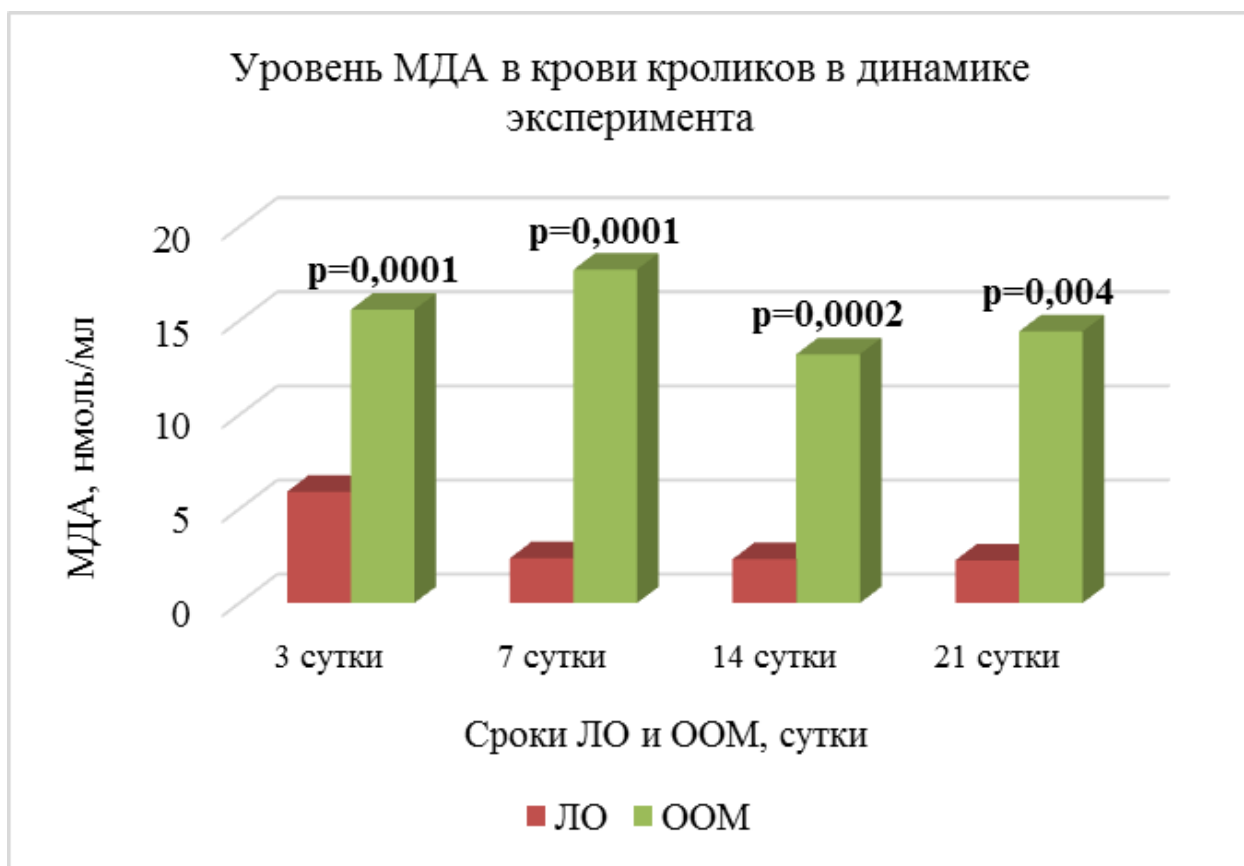


Рисунок 3.1.6 – Содержание МДА в крови кроликов в динамике ООМ.

Примечание: **p**– обозначены статистически значимые изменения в сравнении с контрольной группой (ЛО).

На 21 сутки ООМ фиксировались повышенные значения общего белка крови, МСМ, МИК и БИК по сравнению с другими сроками эксперимента. Таким образом, в течение первых 14 суток происходит физиологическая адаптация экспериментальных животных вследствие активации компенсаторных механизмов контралатеральной почки после моделирования ООМ. Однако, по мере увеличения времени обструкции, компенсаторные процессы оказываются недостаточными и у экспериментальных животных появляются нарушения общесоматического состояния. Наблюдается перенапряжение адаптационных механизмов, сопряженное с развитием окислительного стресса и высоким уровнем эндогенной интоксикации, приводящей к структурно-метаболическим изменениям как в пораженной, так и в контралатеральной почке.

В данной экспериментальной модели имеют место три компонента патогенеза накопления токсических продуктов: операционная травма; обструктивная почка, как источник эндогенных токсических субстанций; нарушение оттока мочи, несмотря на наличие полноценной, неповрежденной контралатеральной почки. В связи с этим сравнение полученных данных проводилось не только с цифрами физиологической нормы, но и с динамическими данными контрольной группы ложнооперированных животных.

Общий анализ мочи – неотъемлемая часть в комплексе лабораторных методов оценки функционального состояния организма в целом и функций почек, в частности. На состав мочи оказывает влияние множество показателей: количество принятой жидкости, изменение общего состояния животного при стрессе, оперативное вмешательство, воспаление.

Исследование физико-химических показателей мочи (плотность, кислотность) кроликов экспериментальных групп на 7, 14 и 21 сутки обструкции выявило изменения в сравнении с контролем (таблица 3.1.2). Плотность мочи обуславливается количеством растворенных в ней солей, белков, сахаров и других веществ. Повышенный показатель может говорить о инфекционных процессах в мочевыводящих путях за счет наличия бактерий, лейкоцитов, эритроцитов. Увеличение плотности мочи на 21 сутки ООМ связано с обнаружением в эти же сроки в моче белка и лейкоцитов (таблица 3.1.3, таблица 3.1.4).

Кислотность мочи – величина, отражающая концентрацию свободных H^+ -ионов (рН). рН мочи во многом зависит от рациона животных, а у травоядных кроликов в норме этот показатель колеблется – от нейтральной до щелочной. Поскольку моча образуется посредством фильтрации плазмы крови, то и рН мочи также отражает рН крови. Кроме того, кислотность является грубым показателем концентрации газов в крови. Следует отметить, что снижение кислотности мочи на 7 сутки ООМ в экспериментальной группе (таблица 3.1.2) совпадает с снижением эритроцитов и гемоглобина крови (анемией) у животных в этот же период (таблица 3.1.1). На 14 сутки кислотность мочи у опытной группы возвращается в границы нормы, также, как и другие показатели ОАК, влияющие

на рН крови и как следствие на рН мочи. Щелочная реакция (рН 9,0) у экспериментальной группы на 21 сутки ООМ может быть связана с наличием уреазы-продуцирующих бактерий в моче, что подтверждается пиурией (обнаружение лейкоцитов в осадке мочи), которые расщепляют мочевину до аммиака, в результате чего происходит подщелачивание мочи (таблица 3.1.2).

Таблица 3.1.2 – Изменение показателей плотности и кислотности мочи у кроликов контрольной (ЛО) и экспериментальной (ООМ) групп в динамике эксперимента.

Группы сравнения Показатель	7 сутки		14 сутки		21 сутки	
	ЛО	ООМ	ЛО	ООМ	ЛО	ООМ
Плотность мочи, г/л	1,01 [1,01; 1,015]	1,02 [1,02; 1,02]	1,01 [1,01; 1,015]	1,02 [1,01; 1,02]	1,01 [1,01; 1,015]	1,03 [1,03; 04]
Кислотность мочи, рН	8 [8; 8]	6 [6; 7]	8 [8; 8]	8 [6; 8]	8 [8; 8]	9 [8; 9]

Примечание: в таблице средние значения представлены в виде медианы [нижний квартиль; верхний квартиль].

В первые две недели эксперимента существенных изменений в ОАМ по органолептическим показателям (цвет, запах, прозрачность) во всех группах животных обнаружено не было. В норме цвет может варьировать от соломенного до насыщенного желтого и определяется присутствием в моче красящих веществ – уробилина, урозеина, уроэритрина. На 21 сутки ООМ у всех кроликов опытной группы цвет мочи приобретал коричневый оттенок. Самыми распространенными причинами потемнения мочи являются болезни печени, желчного пузыря и почек. Следовательно, в экспериментальной группе появление в моче коричневого оттенка связано с длительным нарушением оттока мочи.

По качественным биохимическим показателям ОАМ (позитивная и негативная реакция): белок, глюкоза, билирубин, кетоновые тела (ацетон) – изменения на 7 и 14 сутки ООМ в экспериментальных группах в сравнении с контролем не выявлены (таблица 3.1.3). Только на 21 сутки в опытной группе регистрировались изменения, так у 67% кроликов был обнаружен белок в моче и у 33% кетоновые тела.

Таблица 3.1.3 – Изменение качественных показателей ОАМ у кроликов контрольной (ЛО) и экспериментальной (ООМ) групп в динамике эксперимента.

Группы сравнения		7 сутки		14 сутки		21 сутки	
		ЛО	ООМ	ЛО	ООМ	ЛО	ООМ
Белок	neg	100%	100%	100%	100%	100%	33%
	pos	-	-	-	-	-	67%
Билирубин	neg	100%	100%	100%	100%	100%	100%
	pos	-	-	-	-	-	-
Кетоновые тела	neg	100%	100%	100%	100%	100%	67%
	pos	-	-	-	-	-	33%
Глюкоза	neg	100%	100%	100%	100%	100%	100%
	pos	-	-	-	-	-	-

Повышение содержания белка и глюкозы в моче является одним из первых признаков нарушения функций почек и появления воспаления в мочевыделительной системе. Основными белковыми компонентами мочи являются глобулины с низкой молекулярной массой, которые свободно фильтруются в клубочках. Большинство из этих отфильтрованных белков впоследствии реабсорбируются эпителием почечных канальцев. Чаще всего ренальная протеинурия связана с заболеваниями клубочковой системы и канальцев. Такая протеинурия интерпретируется в том случае, когда осадок мочи свободен от эритроцитов и лейкоцитов. Однако в группе на 21 сутки в ОАМ эритроцитов не обнаружено, а вот лейкоциты найдены у 67% кроликов (таблица

3.1.3). Эти данные указывают на влияние экстраренальных факторов, приводящих к транзиторной, слабо выраженной протеинурии за счет увеличения клубочковой проницаемости. Обнаружение билирубина в моче может свидетельствовать о резком повышении концентрации его в крови, в следствие чего почки берут на себя нагрузку по его выведению (в норме билирубин полностью выводится через кишечник). В течение всего эксперимента этот показатель был негативен в ОАМ у всех кроликов и на всех сроках ООМ.

Кетоновые тела не должны содержаться в моче здорового животного, так как они полностью реабсорбируются в проксимальных канальцах почек. При значительном повышении уровня кетоновых тел в крови (кетонемии) и последующей их фильтрации, они не полностью реабсорбируются эпителиальными клетками почечных канальцев, что приводит к кетонурии. Кетонурия не является показателем заболевания почек, но указывает на накопление высокотоксичных кетонов и свидетельствует об эндотоксемии. Кетоновые тела были зарегистрированы в ОАМ у 33% кроликов экспериментальной группы только на 21 сутки ООМ, что свидетельствует уже о протекании патофизиологических процессов у этих животных (таблица 3.1.3). Глюкоза не содержалась в моче во всех группах и на всех сроках эксперимента. Полученные данные по этим четырём показателям ОАМ говорят об индивидуальной физиологической адаптации организма каждого животного опытной группы к острой обструкции.

Микроскопический анализ мочи кроликов с ООМ на наличие эритроцитов и лейкоцитов показал отрицательный результат на 7 и 14 сутки по лейкоцитам и положительный результат по эритроцитам (таблица 3.1.4). Поскольку препятствие оттоку мочи приводит к растяжению органа, то возможно и к микроповреждению сосудов и появлению эритроцитов в моче. Отсутствие эритроцитов в ОАМ на 21 сутки обструкции, вероятно, связано с возможностью их лизиса в щелочной среде, поскольку среднее значение рН мочи в этот период составляло 9,0.

Лейкоциты в норме в моче отсутствуют, а их появление может быть связано с бактериурией. Обнаружение лейкоцитов в осадке мочи (пиурия), на 21 сутки

эксперимента у 67% животных с ООМ, указывает на активный воспалительный процесс в их мочевыделительной системе. Следует отметить, что, как и эритроциты, лейкоциты также могут лизироваться в гипотонической или щелочной моче.

Таблица 3.1.4 – Результаты микроскопического анализа мочи у кроликов контрольной (ЛО) и экспериментальной (ООМ) групп в динамике эксперимента.

Группы сравнения Показатель		7 сутки		14 сутки		21 сутки	
		ЛО	ООМ	ЛО	ООМ	ЛО	ООМ
Эритроциты	neg	100%	-	100%	-	100%	100%
	pos	-	100%	-	100%	-	-
Лейкоциты	neg	100%	100%	100%	100%	100%	33%
	pos	-	-	-	-	-	67%

Таким образом, регистрация лейкоцитов крови в моче экспериментальных животных совпало со сроком изменения ее цвета, наличием белка и кетоновых тел, что служит еще одним подтверждением нарушения работы почек и присоединением воспалительного процесса.

Поскольку моча образуется путем фильтрования плазмы крови в капиллярных клубочках и реабсорбции большинства растворенных в ней веществ и воды в проксимальных канальцах и секреции в дистальных канальцах, то с одной стороны, состав мочи коррелирует с составом крови, а с другой стороны отражает работу почек и состояние мочевых путей. Своевременный ОАМ, проводимый в диагностических целях, помогает в постановке правильного диагноза и в назначении корректной тактики лечения заболеваний почек.

Исследование динамики показателей, отражающих ответ организма на обструкцию почки, позволит определить оптимальные сроки и выбор эффективной схемы лечения пациентов с ОПП до наступления необратимых изменений в поврежденной почке.

3.2. Макроскопические изменения обструктивной и контралатеральной почек кроликов в динамике односторонней обструкции мочеточника

Почки – парные, паренхиматозные органы бобовидной, уплощенной формы буро-коричневого цвета. Внутренний край вогнут и представляет собой ворота почки – место вхождения сосудов, нервов и выхода мочеточника. Масса почек взрослого кролика составляет 0,6 – 0,7% от массы тела. Почки расположены забрюшинно, масса и размеры правой обычно больше, чем левой. Размеры почек взрослого кролика следующие (мм): длина – 30, ширина – 20 и толщина – 15 мм (рисунок 3.2.1). У кролика гладкие однососочковые почки, дифференцируются по признаку полного слияния не только корковых, но и мозговых зон: у них лишь один общий сосочек, погруженный в почечную лоханку. На сагиттальном разрезе различают корковую (мочеотделительную) зону, расположенную по периферии, имеющую темно-красный цвет и мозговую (мочеотводящую) зону с более светлой окраской, а также почечную полость, в которой помещается почечная лоханка. Почечных пирамид 10 – 16. Снаружи почка покрыта фиброзной капсулой, которая рыхло соединяется с паренхимой почки и, заворачиваясь внутрь органа, прикрепляется к почечной лоханке. С вентральной поверхности почка покрыта, кроме того, серозной оболочкой [15]. У человека гладкие многососочковые почки, характеризующиеся полным слиянием корковой зоны, на сагиттальном разрезе видны почечные пирамиды, каждая пирамида оканчивается чашечкой, которые открываются в общую полость – почечную лоханку. Почечных пирамид 8 – 12. Анатомические особенности почек кролика являются оптимальными для моделирования почечной патологии, связанной с обструкцией мочевыводящих путей.

Внешние размеры почек и их сагиттального среза определяли с помощью измерительной линейки. Исследовали следующие параметры органа: размеры почки (длина, ширина, толщина), длина контура лоханки, длина контура больших чашечек (верхний, средний и нижний сегменты), толщина слоя паренхимы

(верхний, средний и нижний частях). Результаты макроскопических исследований представлены в таблице 3.2.1.

У кроликов контрольной группы паренхима почек на разрезе была бледно-коричневая, слизистая оболочка – гладкая и блестящая, на сагиттальном срезе прослеживалась четкая граница коркового и мозгового вещества.

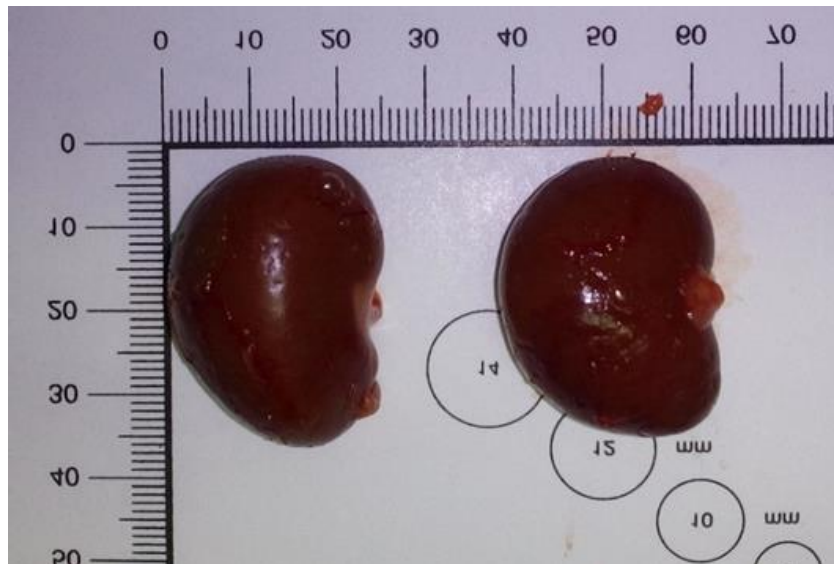


Рисунок 3.2.1 – Внешний вид левой и правой почек кролика контрольной группы.

Ключевыми факторами повреждения почки при обструкции являются повышение давления в лоханке и почечных чашечках, повышение давления внутри почечных канальцев и локальная ишемия, вызванные нарушением оттока мочи. Фактор повышенного давления приводит к видимым изменениям почки, наиболее заметными из которых являются расширение чашечек и лоханки. Наряду с этим, возникают необратимые структурные изменения – атрофия, воспаление, фиброз с потерей почечных функций. Часть изменений видима макроскопически, что демонстрирует выраженность повреждения.

Проведенное макроморфологическое изучение обструктивной почки в сроки на 7, 14 и 21 сутки, позволило установить хронологическую последовательность грубых изменений органа. Так, на 7 сутки эксперимента, размер обструктивного органа оставался в рамках физиологической нормы (рисунок 3.2.2). На сагиттальном срезе наблюдалось полнокровие паренхимы,

слизистая оболочка элементов ЧЛС была серая и тусклая, граница коркового и мозгового вещества визуальнo сглажена (рисунок 3.2.3).



Рисунок 3.2.2 – Внешний вид почек кролика на 7 сутки ООМ. А – левая обструктивная почка, Б – правая контралатеральная почка.

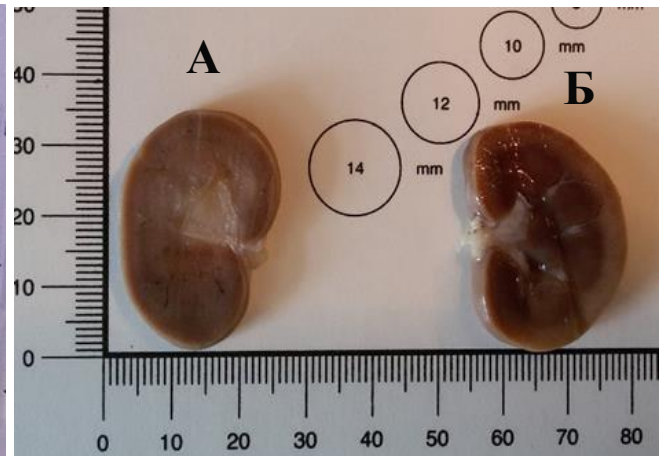


Рисунок 3.2.3 – Сагиттальный разрез почек кролика на 7 сутки ООМ. А – левая обструктивная почка, Б – правая контралатеральная почка.

На 14 сутки эксперимента размер обструктивной почки увеличился по всем трем параметрам в среднем: в длину на 0,65 см; в ширину на 0,4 см; в толщину на 0,95 см, что составляет 18,3%, 19,0% и 55,9% соответственно (рисунок 3.2.4, таблица 3.2.1). При макроскопическом исследовании, на сагиттальном срезе, толщина слоя паренхимы обструктивной почки уменьшилась на 0,3 см в сравнении с контролем и отличалась малокровием, слизистая была серая и тусклая, граница слоев на большом протяжении дифференцировалась с трудом (рисунок 3.2.5). Наблюдались и изменения параметров ЧЛС, так периметр лоханки увеличился на 1 см в сравнении с контрольными значениями, а чашечки практически в два раза. Все указанные изменения показателей статистически значимы, что отражено в сводной таблице морфометрических данных макроскопического исследования, за исключением некоторых размеров ЧЛС в ранние сроки обструкции у обструктивной и контралатеральной почек (таблица 3.2.1).

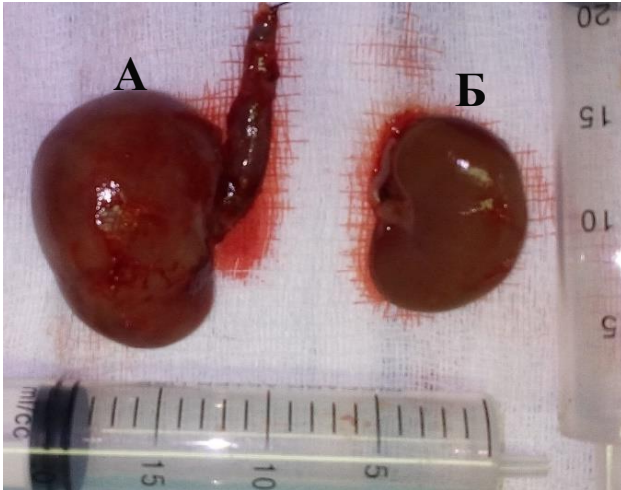


Рисунок 3.2.4 – Внешний вид почек кролика на 14 сутки ООМ. А – левая обструктивная почка, Б – правая контралатеральная почка.

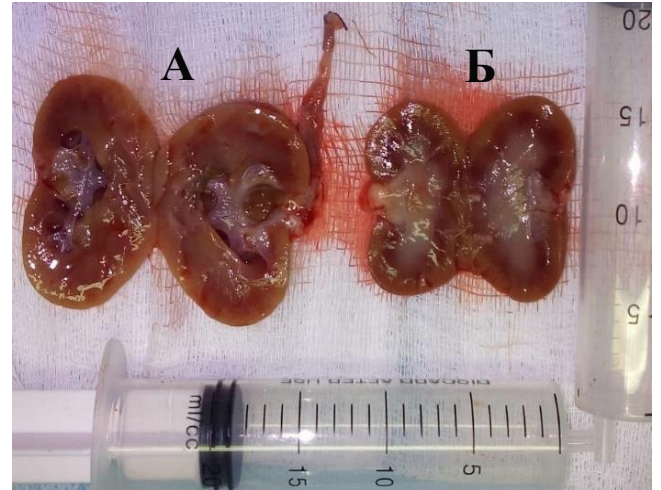


Рисунок 3.2.5 – Сагиттальный разрез почек кролика на 14 сутки ООМ. А – левая обструктивная почка, Б – правая контралатеральная почка.

На 21 сутки эксперимента наблюдалось еще большее увеличение размеров обструктивного органа в сравнении с контролем: длина, ширина и толщина увеличились на 1,1 см, что составляет 31,0%, 52,4% и 64,7% соответственно (рисунок 3.2.6). На сагиттальном срезе размер паренхимы обструктивной почки не изменился по сравнению с 14 сутками эксперимента. Паренхима была малокровной, слизистая серая и тусклая, граница коры и пирамид практически не различалась. Регистрировались значительные изменения параметров ЧЛС: так периметр лоханки увеличился в 2,6 раза, а параметры чашечек практически в 3 раза (рисунок 3.2.7).

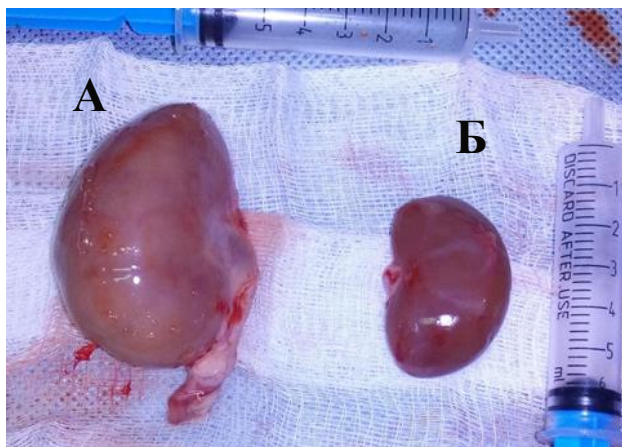


Рисунок 3.2.6 – Внешний вид почек кролика на 21 сутки ООМ. А – левая обструктивная почка, Б – правая контралатеральная почка.

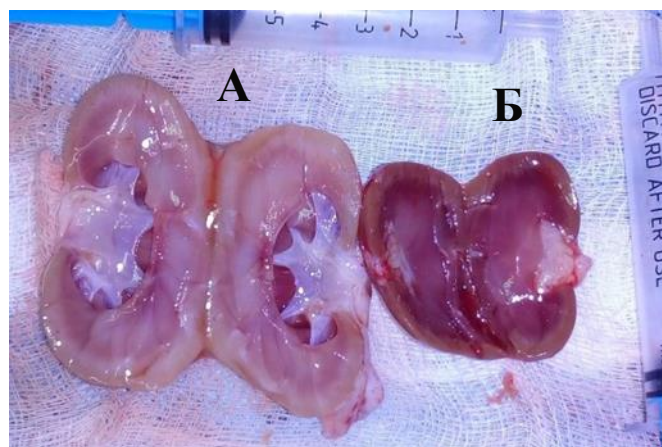


Рисунок 3.2.7 – Сагиттальный разрез почек кролика на 21 сутки ООМ. А – левая обструктивная почка, Б – правая контралатеральная почка.

Таким образом, в ходе эксперимента установлено значительное увеличение размера обструктивной почки. Так, высота органа к концу эксперимента увеличилась на 31,0% по сравнению с контролем, ширина – на 52,4%, а толщина на 64,7%. Прогрессирующее увеличение ЧЛС почки к 21 дню эксперимента, более чем в 2 раза, говорит об активном гидронефрозе. Воздействие нарастающего давления со стороны мочеобразующих и мочевыводящих элементов на паренхиму приводит к ее истончению, что в свою очередь ведет к постепенной утрате почечной функции.

Таблица 3.2.1 – Макроскопические показатели обструктивной и контралатеральной почек кроликов в динамике ООМ

Параметры морфометрии	Контроль	7-е сутки		14-е сутки		21-е сутки	
		Обструктивная почка n=6	Контралатеральная почка n=6	Обструктивная почка n=6	Контралатеральная почка n=6	Обструктивная почка n=6	Контралатеральная почка n=6
Размер почки: длина (см)	3,55 [3,5; 3,6]	4,0 * [3,9; 4,1]	3,5 ** [3,4; 3,6]	4,2 * [4,2; 4,3]	3,45 ** [3,4; 3,5]	4,6 * [4,5; 4,7]	3,55 * ** [3,5; 3,7]
Размер почки: ширина(см)	2,1 [2; 2,2]	2,65 * [2,6; 2,8]	2,25 ** [2,1; 2,3]	2,5 * [2,4; 2,5]	2,2 ** [2,1; 2,3]	3,15 * [3,1; 3,2]	2,35 ** [2,3; 2,5]
Размер почки: толщина (см)	1,7 [1,7; 1,8]	2,55 * [2,5; 2,6]	1,65 ** [1,6; 1,8]	2,65 * [2,5; 2,7]	2,1 * ** [2,1; 2,2]	2,75 * [2,7; 2,9]	2,2 * ** [2,1; 2,3]
Лоханка: длина контура (см)	0,9 [0,8; 0,9]	1,5 * [1,5; 1,6]	1,0 ** [0,9; 1,1]	1,95 * [1,8; 2]	1 * ** [1; 1]	2,35 * [2,3; 2,4]	1,2 * ** [1,2; 1,3]
Чашечки: длина контура верхний сегмент (см)	0,3 [0,2; 0,4]	0,6 * [0,5; 0,7]	0,4 ** [0,4; 0,4]	0,65 * [0,6; 0,7]	0,2 ** [0,2; 0,3]	1 * [1; 1]	0,3 ** [0,3; 0,3]
Чашечки: длина контура средний сегмент (см)	0,3 [0,2; 0,4]	0,5 [0,4; 0,6]	0,35 [0,3; 0,4]	0,7 * [0,7; 0,8]	0,2 ** [0,2; 0,3]	1 * [1; 1]	0,3 ** [0,2; 0,3]

Чашечки: длина контура нижний сегмент (см)	0,3 [0,2; 0,3]	0,6 * [0,5; 0,6]	0,35 [0,3; 0,4]	0,7 * [0,6; 0,8]	0,2 ** [0,2; 0,2]	0,95 * [0,9; 1]	0,3 ** [0,2; 0,3]
Паренхима: толщина слоя верхняя часть (см)	1,3 [1,3; 1,4]	0,8 * [0,8; 0,9]	1,0 * [0,9; 1]	0,95 * [0,8; 1]	1 * ** [1; 1,1]	1 * [1; 1,1]	1,5 * ** [1,5; 1,6]
Паренхима: толщина слоя средняя часть (см)	1,45 [1,3; 1,6]	1,0 * [1; 1,1]	1,25 [1; 1,5]	1 * [1; 1]	1,25 * ** [1,2; 1,3]	0,95 * [0,8; 1,2]	1,25 * ** [1,1; 1,3]
Паренхима: толщина слоя нижний часть (см)	1,15 [1; 1,2]	0,8 * [0,8; 0,8]	1,0 ** [1; 1,1]	0,85 * [0,8; 0,9]	1,05 ** [1; 1,1]	0,9 * [0,9; 0,9]	1,15 ** [1,1; 1,3]

Примечание: «*» - изменения статистически значимые по сравнению с контролем; «**» - изменения статистически значимые по сравнению с обструктивной почкой

По данным этого исследования ключевые макроскопические изменения в разных отделах обструктивной почки проявляются на разных сроках. Так, на 7 сутки перевязки мочеточника возникает выраженное полнокровие почечной паренхимы, которое с увеличением срока обструкции сменяется нарастающей ишемией с формированием микропапиллонекрозов. В последующие 14 – 21 сутки нарастающая гипоксия паренхимы и механическое давление на нефротелий в обструктивной почке являются причинами необратимых процессов в виде атрофии и склероза.

Несмотря на значительное повышение функциональной нагрузки на контралатеральную почку, при макроскопическом исследовании изменения регистрируемых параметров отмечались в границах физиологической нормы. Следует отметить, что на 21 сутки имело место увеличение размера почки, а именно ширины и толщины на 12% и 29% соответственно в сравнении с контролем. Очевидно, зафиксированные макроскопические изменения в контралатеральной почке отражают начало формирования процессов адаптации органа к повышению функциональной нагрузки при длительной обструкции парного органа.

3.3. Морфологические изменения ткани обструктивной и контралатеральной почек в динамике односторонней обструкции мочеточника

Морфологическое исследование позволило выявить определенные закономерности развития ОУ в динамике. Наибольшие изменения в обструктивной почке были отмечены со стороны канальцевой системы.

Через 7 суток ООМ в ткани обструктивной почки имелись отдельные очаги коагуляционного некроза эпителия извитых канальцев без перифокальной реактивной воспалительной инфильтрации (рисунок 3.3.1). 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.

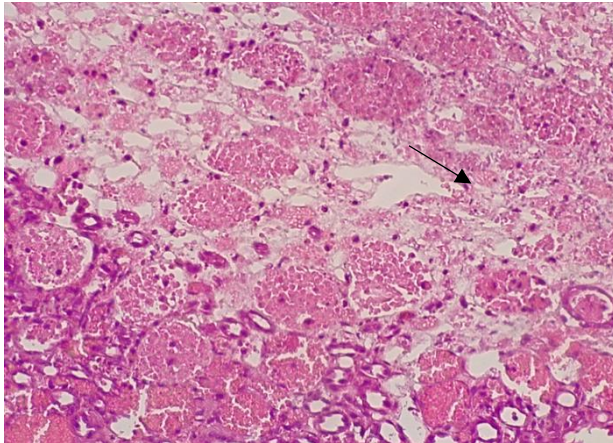


Рисунок 3.3.1 – Очаги коагуляционного некроза эпителия извитых канальцев обструктивной почки (→) на 7 сутки ООМ. Окраска гематоксилином-эозином, Ув. x 200.

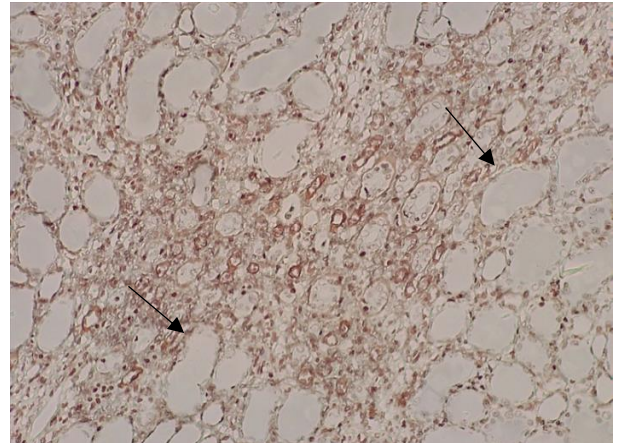


Рисунок 3.3.2 – Очаги межтубулярного фиброза в мозговом слое, умеренная эктазия дистальных канальцев обструктивной почки (→) на 7 сутки ООМ. Окраска Метенамин-серебро, Ув. x 200.

В мозговом веществе почки отмечалась умеренная эктазия дистальных канальцев без признаков атрофии эпителиоцитов, развитие межтубулярного сетчатого фиброза стромы. В ядрах эпителиоцитов дистальных канальцев имелась гипохромия ядер, ядрышек, что свидетельствовало о наличии выраженной дистрофии (рисунок 3.3.2). 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 суток нарастали дистрофические, некробиотические изменения эпителия дистальных канальцев нефронов с развитием межтубулярного сетчатого фиброза стромы вокруг них (рисунок 3.3.3). Отдельные дистальные канальцы были неравномерно расширены, имели признаки кистозной трансформации. При этом отмечалась атрофия клеток, в базальных мембранах

накапливались кислые мукополисахариды (рисунок 3.3.4). Окраска Метенамин-серебро выявляла значительную гипохромию 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, гидropической дистрофии, отдельные из которых были кистозно расширены. Сосуды капиллярного, артериального, венозного типа, клубочки были сохранены, имели признаки отека, незначительного накопления кислых мукополисахаридов.

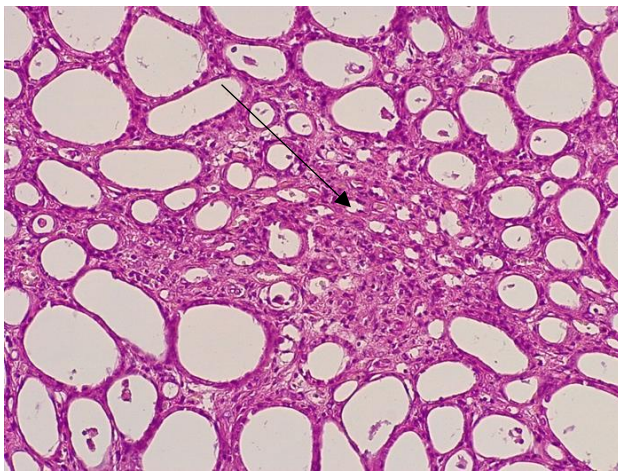


Рисунок 3.3.3 – Интерстициальный фиброз стромы мозгового слоя обструктивной почки (→) на 14 сутки ООМ. Окраска гематоксилином-эозином, Ув. x 200.

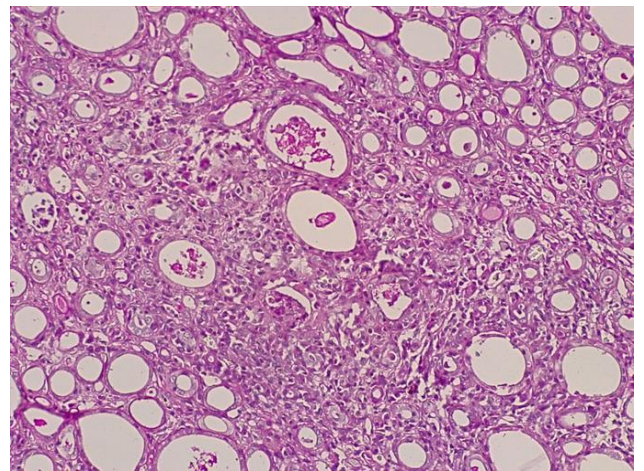


Рисунок 3.3.4 – Кистозная трансформация с атрофией эпителиоцитов дистальных канальцев, накопление кислых мукополисахаридов в базальных мембранах обструктивной почки на 14 сутки ООМ. PAS-реакция по Хочкиссу, Ув. x 200.

На 21 сутки 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 претерпевал существенные некробиотические, дистрофические изменения вплоть до развития кистозной трансформации (рисунок 3.3.5, рисунок 3.3.6).

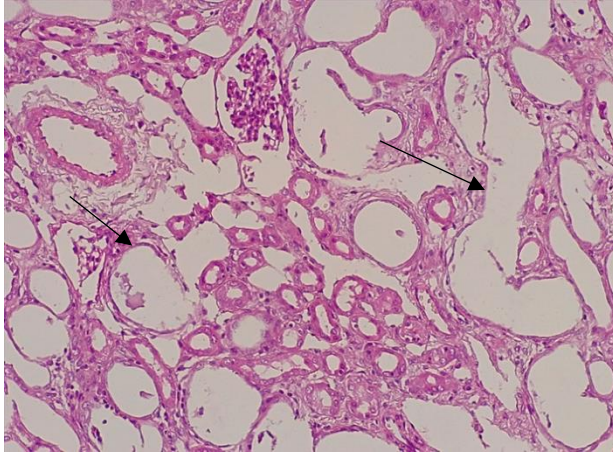


Рисунок 3.3.5 – Кистозная трансформация извитых дистальных канальцев с резкой атрофией эпителиоцитов обструктивной почки (→) на 21 сутки ООМ. Окраска гематоксилином-эозином, Ув. x 200.

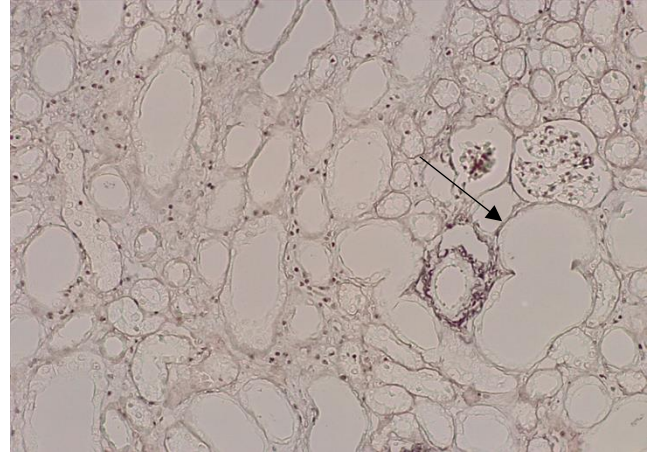


Рисунок 3.3.6 – Кистозная трансформация, выраженные дистрофические, некробиотические изменения проксимальных канальцев обструктивной почки (→) на 21 сутки ООМ. Окраска Метенамин-серебро, Ув. x 100.

Существенных морфологических изменений со стороны сосудов артериального, капиллярного, венозного типов не выявлялось, в их стенках имелась лишь незначительная инфильтрация кислыми мукополисахаридами.

Таким образом, с использованием экспериментальной модели ООМ удалось выявить определенные морфологические изменения в обструктивной почке, которые можно рассматривать как закономерные морфофункциональные изменения в разные по длительности периоды обструкции.

Так, в первые 7 суток, после перевязки мочеточника, имеют место компенсаторные реакции со стороны канальцевого аппарата мозгового слоя почек

без существенного их изменения, с минимальным развитием межуточного фиброза. В последующие сроки (14 – 21 сутки) морфологические изменения носят более грубый характер и компенсаторные изменения в клетках эпителия канальцев сменяются патологическими изменениями, что выражается значительной белковой, гидропической дистрофией, атрофией, кистозной трансформацией клеток эпителия канальцев мозгового и коркового слоев, а также появлением крупных зон интерстициального (межуточного) фиброза стромы.

Следует отметить, что по мере увеличения срока обструкции отмечается прогрессия негативных изменений с появлением вторичных дистрофически – атрофических конверсий канальцевого аппарата и последующего склероза почечной ткани.

В контралатеральной почке более выраженные морфологические изменения отмечались также со стороны канальцевой системы. Через семь дней после начала развития обструктивной уropатии в проксимальных канальцах и петле Генле отмечалось селективное расширение их просветов с развитием гидропической дистрофии, острого набухания эпителиоцитов (рисунок 3.3.7). В отдельных клеточных структурах извитых канальцев отмечались явления гиалиново-капельной белковой дистрофии, при этом грубых повреждений клеток, включая некротические изменения, не наблюдалось (рисунок 3.3.8). Патологических изменений со стороны клубочкового аппарата, сосудов, стромы почек выявлено не было. Спустя 14 дней от начала развития обструктивной уropатии сохранялась выраженная гидропическая дистрофия эпителия петли Генле, собирательных трубочек с вакуолизацией цитоплазмы. Характерно, что под эпителием лоханок и чашечек отмечались очаги из скоплений фибробластов среди отечной, пропитанной белками, стромы (рисунок 3.3.9). Эпителий проксимальных канальцев сохранял признаки гиалиново-капельной белковой дистрофии (рисунок 3.3.10). При этом сосуды артериолярного типа и капилляры клубочков имели признаки отека, набухания стенок.

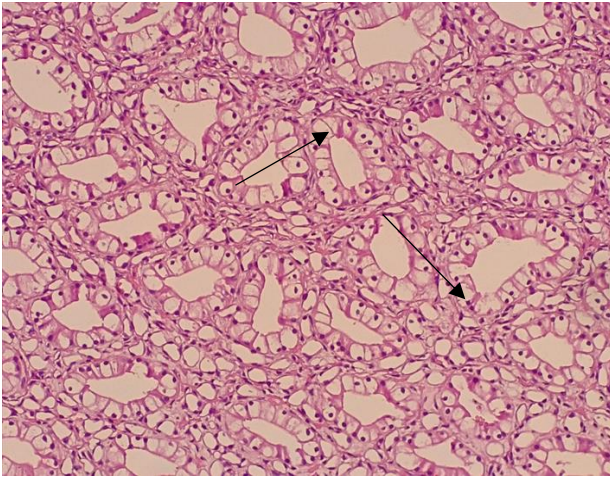


Рисунок 3.3.7 – Селективное расширение просветов проксимальных канальцев с развитием гидropической дистрофии, набухание эпителиоцитов контралатеральной почки (→) на 7 сутки ООМ. Окраска гематоксилином-эозином, Ув. x 200.

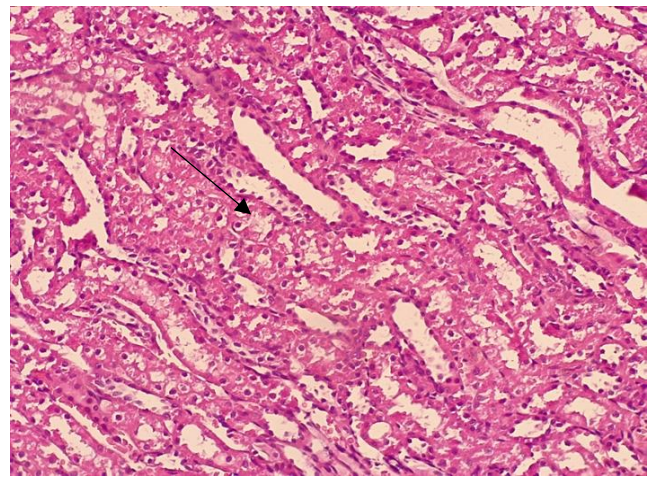


Рисунок 3.3.8 – Проксимальные канальцы с признаками гидropической и гиалиново-капельной дистрофии контралатеральной почки (→) на 7 сутки ООМ. Окраска гематоксилином-эозином, Ув. x 200.

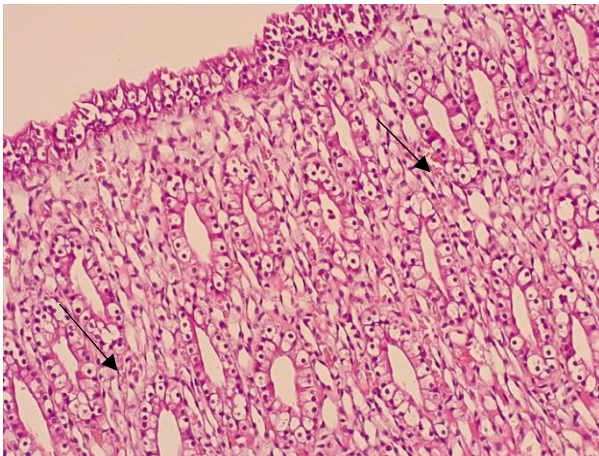


Рисунок 3.3.9 – Очаги скоплений фибробластов в строме контралатеральной почки (→) на 14 сутки ООМ. Окраска гематоксилином-эозином, Ув. x 200.

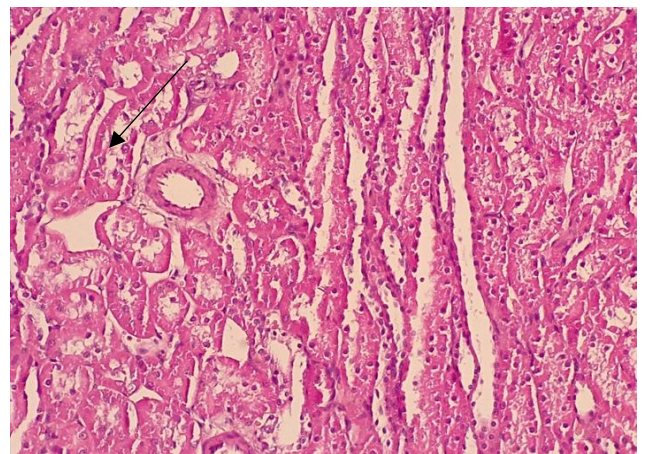


Рисунок 3.3.10 – Эпителий проксимальных канальцев с признаками гиалиново-капельной белковой дистрофии в контралатеральной почке (→) на 14 сутки ООМ. Окраска гематоксилином-эозином, Ув. x 200.

На 21 сутки ООМ в контралатеральной почке в мозговом веществе между собирательными канальцами отмечалось развитие рыхлой соединительной ткани, богатой новообразованными тонкостенными сосудами капиллярного типа. Эндотелий капилляров был представлен крупными светлыми элементами и содержал гиперхромные ядра, что указывало на высокую пролиферативную активность. Эпителий проксимальных канальцев имел признаки гидропической дистрофии, хорошо визуализировалась щеточная каемка в эпителиоцитах, цитоплазма клеток имела сетчатый вид со скоплением белковых гранул (рисунок 3.3.11).



Рисунок 3.3.11 – Щеточная каемка в эпителиоцитах проксимальных канальцев контралатеральной почки (→) на 21 сутки ООМ. Окраска гематоксилином-эозином, Ув. x 1000.

Таким образом, динамическое морфологическое исследование контралатеральной почки при ООМ выявило ряд характерных структурных изменений канальцевого аппарата и межтубулярного вещества. В первые 7 дней развития обструкции преобладали дистрофические изменения (гиалиново-капельная, гидропическая дистрофия канальцевого аппарата). На 14 – 21 сутки отмечались изменения в строме почечной ткани в форме сетчатого фиброза, локализующегося между отдельными канальцевыми структурами мозгового вещества почки, с последующим развитием в нем неоангиогенеза.

Установленные морфофункциональные изменения контралатеральной почки при экспериментальной ООМ обеспечивают компенсаторно – адаптивные реакции органа на повышение нагрузки и направлены на поддержание гомеостаза организма в целом.

3.4. Морфометрические изменения в нефроне обструктивной и контралатеральной почек в динамике односторонней обструкции мочеточника

Важным методом изучения состояния почечной ткани при патологии и прогнозировании течения заболевания является морфологическое исследование биоптатов почек. Анализ структурных закономерных изменений различных отделов нефронов при экспериментальном воспроизведении заболеваний является одной из важнейших проблем современной нефрологии [21]. При моделировании ООМ авторы обычно используют для оценки макроскопические и стандартные биохимические показатели, только некоторые исследователи в своих работах оценивают морфометрические изменения параметров нефрона [23-24, 28].

В настоящей работе оценивались площадь почечного тельца, сосудистого клубочка, площадь на срезе фрагментов (образованных клетками) проксимального, дистального извитых канальцев, восходящей части петли Генле, а также просвета указанных структур, высота эпителиоцитов в указанных частях нефрона на срезах почек (рисунок 3.4.1). Проведенное исследование морфометрических показателей позволило установить закономерные изменения в разных отделах нефронов обструктивной (таблица 3.4.1), и контралатеральной (таблица 3.4.2) почек в течение всех сроков эксперимента.

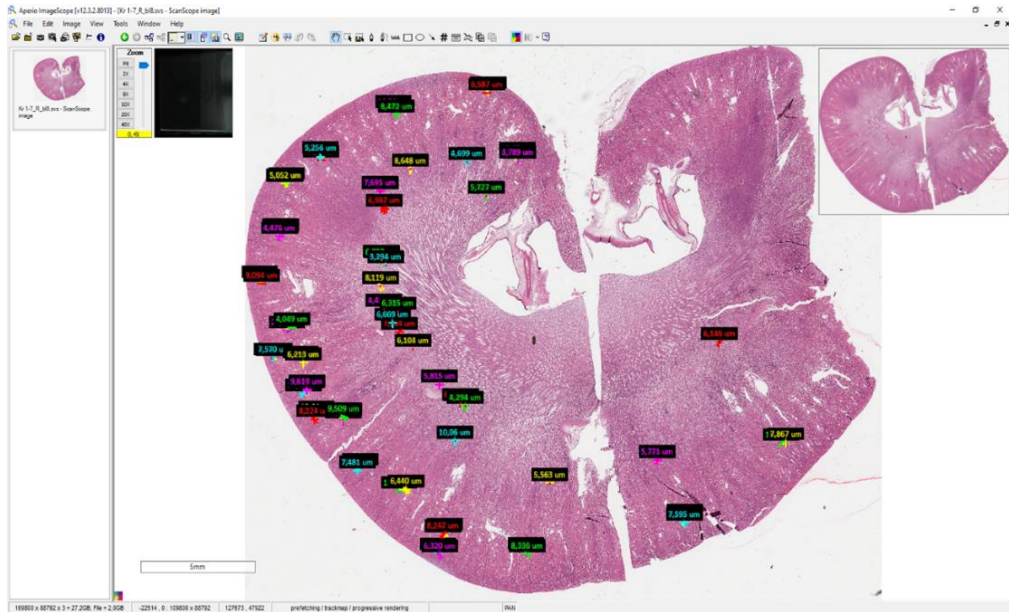


Рисунок 3.4.1 – Морфометрическое исследование предварительно отсканированных образцов в программе Aperio ImageScope (v. 12.4.0).

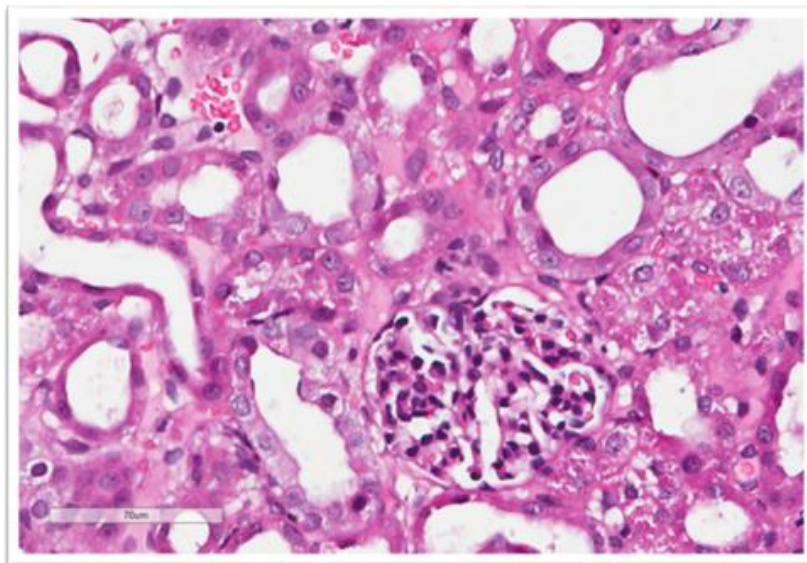


Рисунок 3.4.2 – Морфометрические изменения в нефроне (увеличение МПК, увеличение площади почечных канальцев) на 7 сутки ООМ в обструктивной почке. Окраска гематоксилином-эозином, Ув. x 400.

На 7 сутки ООМ в почке, подвергавшейся обструкции, наблюдалось увеличение мочевого пространства капсулы (МПК) с $1318,08 \pm 401,95$ мкм до $2319,07 \pm 678,53$ мкм, что составляет прирост его площади на 75,9%. Увеличение

МПК определено соответствующими изменениями в почечных канальцах, как в проксимальном (площадь проксимального канальца увеличилась на 34% в сравнении с контролем), так и в дистальном отделах (площадь дистального канальца увеличилась на 45,8% в сравнении с контролем), а также в петле Генле (площадь петли увеличилась более чем в 2 раза – 105% в сравнении с контролем) (рисунок 3.4.2).

Очевидно, что установленные изменения связаны с накоплением не оттекающей мочи и растяжением почечных канальцев под ее давлением. Однако изменений в высоте эпителия не отмечалось, что указывает на сохранение функций нефрона обструктивной почки на 7 сутки ООМ. В контралатеральной почке в этот же срок эксперимента наблюдалось незначительное уменьшение площади и диаметра почечного тельца за счет уменьшения мочевого пространства на 29,30%. Значительных изменений в других изучаемых показателях установлено не было.

Начиная с 14 суток направленность изменений морфометрических показателей меняется на противоположную. В поврежденной почке происходит значительное уменьшение морфометрических показателей практически всех элементов нефрона, как по сравнению с контролем, так и с седьмыми сутками эксперимента. Размеры мочевого пространства уменьшились в сравнении с ранними сроками, но еще оставались выше контрольных значений, площадь тельца и клубочка уменьшились на 5,9% и 35,3% соответственно, площадь и диаметр дистального канальца на 11,00% и 6,13%, площадь и диаметр восходящей части петли – на 14,81% и 8,67% соответственно. Сужение канальцев, главным образом, обусловлено уменьшением их просвета. На 14 сутки эксперимента имело место незначительное снижение высоты эпителия в проксимальном и дистальном отделах почечного канальца: после двух недель механического давления на эпителий образовавшейся, но не оттекающей мочи истощается адаптивный механизм и развивается состояние угнетения метаболизма, при котором высота эпителия уменьшается (рисунок 3.4.3).

Таблица 3.4.1 – Морфометрические показатели структур нефрона в обструктивной почке

показатель	площадь тельца, мкм ²	диаметр тельца, мкм	площадь клубочка, мкм ²	мочевое пространство, мкм ²	площадь проксимального канальца, мкм ²	диаметр проксималь ного канальца, мкм	площадь просвета проксимальног о канальца, мкм ²	высота эпителия проксимал ьного канальца, мкм
контроль	5304,85 ±1260,61	81,67 ±9,65	3986,77 ±1068,57	1318,08 ±401,95	957,24 ±208,60	34,72 ±3,80	61,32 ±34,40	12,47 ±1,65
7-е сутки	5989,25 ±1328,43	86,77 ±10,07	3670,17 ±993,91	2319,07 ±678,53	1282,83 ±609,61	39,48 ±8,77	169,55 ±150,38*	12,57 ±4,05
14-е сутки	5010,71 ±1313,69	79,13 ±11,11	2946,78 ±760,53*	2016,39 ±716,43	1017,40 ±314,12	35,60 ±5,38	121,66 ±103,29	11,31 ±2,01
21-е сутки	5147,16 ±1077,44	80,51 ±8,78	3260,67 ±791,44*	1886,50 ±545,22	1069,16 ±330,07	36,53 ±5,28	110,05 ±104,88	12,55 ±2,55
показатель	площадь дистального канальца, мкм ²	диаметр дистального канальца, мкм	площадь просвета дистальног о канальца, мкм ²	высота эпителия дистального канальца, мкм	площадь петли, мкм ²	диаметр петли, мкм	площадь просвета петли, мкм ²	высота эпителия петли, мкм
контроль	886,34 ±246,07	33,30 ±4,59	212,15 ±99,08	8,49 ±1,31	827,22 ±120,44	32,38 ±2,34	325,05 ±65,89	6,16 ±0,44
7-е сутки	1292,23 ±545,99	39,75 ±8,20	543,14 ±342,96*	7,53 ±1,56	1703,18 ±777,03*	45,69 ±9,13	970,93 ±621,17*	6,08 ±1,25
14-е сутки	788,83 ±288,95	31,26 ±5,31*	194,59 ±139,15	8,39 ±2,04	704,67 ±248,58*	29,57 ±4,85	288,78 ±174,30*	5,69 ±1,25
21-е сутки	731,83 ±157,61	30,36 ±3,25*	197,66 ±78,33	7,59 ±1,42	724,12 ±247,57*	29,80 ±5,91	366,62 ±194,31	4,81 ±0,86*

Примечание: «*» – изменения статистически значимые по сравнению с контролем (p≤0,05)

Таблица 3.4.2 – Морфометрические показатели структур нефрона контралатеральной почки

показатель	площадь тельца, мкм ²	диаметр тельца, мкм	площадь клубочка, мкм ²	мочевое пространство, мкм ²	площадь проксимального канальца, мкм ²	диаметр проксималь ного канальца, мкм	площадь просвета проксимальног о канальца, мкм ²	высота эпителия проксимал ьного канальца, мкм
контроль	6398,53 ±1441,87	89,70 ±10,46	3777,25 ±920,07	2621,28 ±765,64	1120,11 ±225,54	37,59 ±3,80	106,70 ±57,19	12,09 ±2,04
7-е сутки	5957,46 ±1390,93	86,51 ±10,32	4104,30 ±1094,77	1853,16 ±770,59	1210,36 ±333,11	38,92 ±5,28	92,99 ±65,51	13,77 ±3,25
14-е сутки	5322,65 ±1558,39	81,48 ±11,97	3665,33 ±1124,51	1657,32 ±558,46	1186,06 ±271,50	38,62 ±4,46	85,50 ±64,01	13,83 ±3,09
21-е сутки	6249,97 ±1478,95	88,64 ±10,33	4370,48 ±1083,73	1879,48 ±641,40	1367,81 ±314,45*	41,46 ±4,86*	75,06 ±52,95	15,29 ±3,07
показатель	площадь дистального канальца, мкм ²	диаметр дистального канальца, мкм	площадь просвета дистальног о канальца, мкм ²	высота эпителия дистального канальца, мкм	площадь петли, мкм ²	диаметр петли, мкм	площадь просвета петли, мкм ²	высота эпителия петли, мкм
контроль	1119,54 ±240,38	37,56 ±4,06	365,17 ±144,85	8,29 ±1,33	926,45 ±173,90	34,21 ±3,23	403,08 ±116,53	6,12 ±0,90
7-е сутки	1095,66 ±357,61	36,93 ±5,73	356,45 ±233,72	8,24 ±1,41	927,28 ±339,71	33,89 ±5,78	359,75 ±181,39	6,68 ±1,69
14-е сутки	1007,22 ±232,12	35,59 ±4,13	290,13 ±93,15	8,37 ±1,35	777,39 ±267,85	31,07 ±5,05	315,52 ±118,72	5,76 ±1,18
21-е сутки	1116,13 ±281,07	37,42 ±4,70	233,74 ±104,31	10,43 ±2,34*	702,23 ±155,68*	29,72 ±3,36	280,63 ±86,71	5,70 ±0,39

Примечание: «*» – изменения статистически значимые по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$)

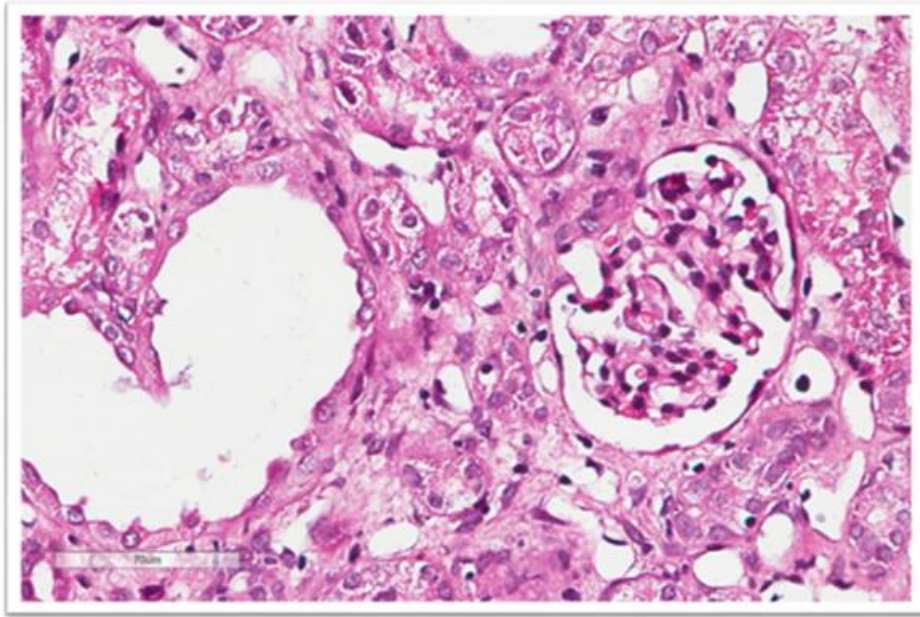


Рисунок 3.4.3 – Морфометрические изменения (снижение высоты эпителия в проксимальном и дистальном отделах почечного канальца) в нефроне на 14 сутки ООМ в обструктивной почке. Окраска гематоксилином-эозином, Ув. х 400.

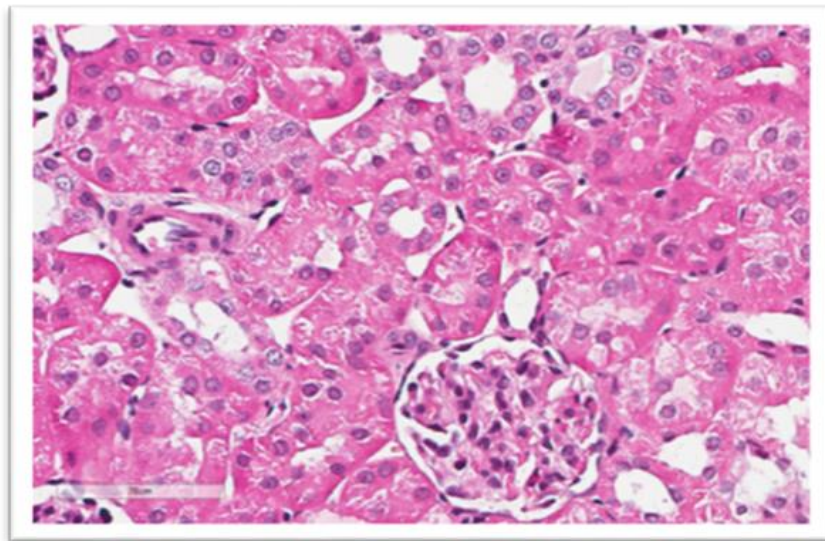


Рисунок 3.4.4 – Морфометрические изменения (увеличение площади и диаметра почечного тельца, увеличение высоты эпителия проксимального канальца) на 14 сутки ООМ в контралатеральной почке. Окраска гематоксилином-эозином, Ув. х 400.

В контралатеральной почке на этом сроке обструкции размеры различных отделов нефрона также становятся меньше, особенно в дистальных канальцах. Так площадь просвета восходящей части петли уменьшается на 21,71%, а

дистального извитого канальца – на 20,55% в сравнении с контролем. Регистрировалось увеличение площади, диаметра почечного тельца и высоты эпителия проксимального канальца, при этом уменьшался его просвет, что указывает на усиление их функциональной реабсорбционной активности, то есть явление приспособительной гипертрофии (рисунок 3.4.4).

На 21 сутки эксперимента наблюдались значительные морфологические изменения в ткани обструктивной почки. Большую часть площади среза занимали расширенные собирательные трубочки и межуточная ткань, не имеющая какой-либо организации. Отдельные элементы нефрона идентифицируются с трудом. У сохранивших свою морфологию нефронов регистрировалось уменьшение размера почечного тельца на 3,1% в сравнении с контрольными значениями. В восходящей части петли отмечалось уменьшение высоты эпителия на 22%. Увеличение просвета канальцев и снижение высоты эпителия в них свидетельствует о потере эпителиоцитами функциональной активности и уже накоплению мочи не только в собирательных трубочках, но и в самом нефроне (рисунок 3.4.5).

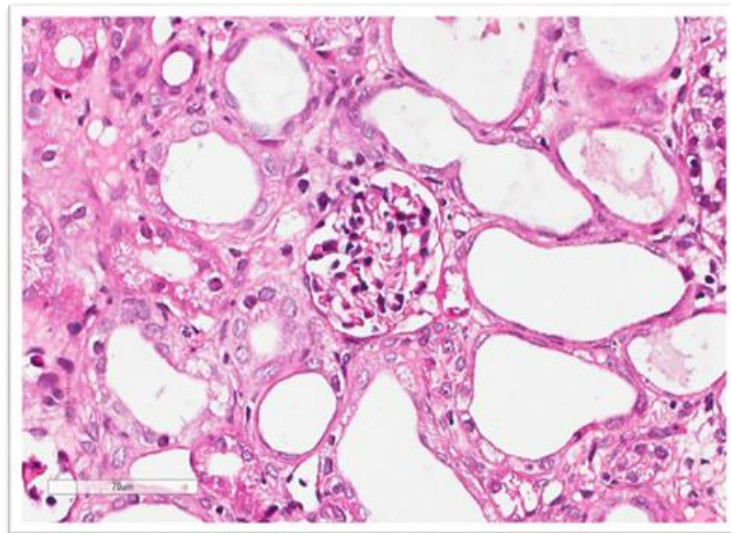


Рисунок 3.4.5 – Морфометрические изменения (уменьшение размера почечного тельца, увеличение просвета канальцев и снижение высоты их эпителия) в нефроне на 21 сутки ООМ в обструктивной почке. Окраска гематоксилином-эозином, Ув. х 400.

В контралатеральной почке наблюдалось увеличение линейных размеров структурных компонентов нефрона. Площадь сосудистого сплетения почечного тельца превышала контрольные значения на 15,71%, что отражалось на площади мочевого пространства, выросшего относительно 14 суток на 13,4%. Увеличивалась высота эпителия проксимальных канальцев, достигших $15,29 \pm 3,07$ мкм, что выше контрольных значений на 26,41%, тогда как просвет их неизменно уменьшается, таким образом, можно сделать вывод, что идет адаптация эпителия канальца по пути гипертрофии. Аналогична ситуация и с размерами дистальных извитых канальцев (рисунок 3.4.6).

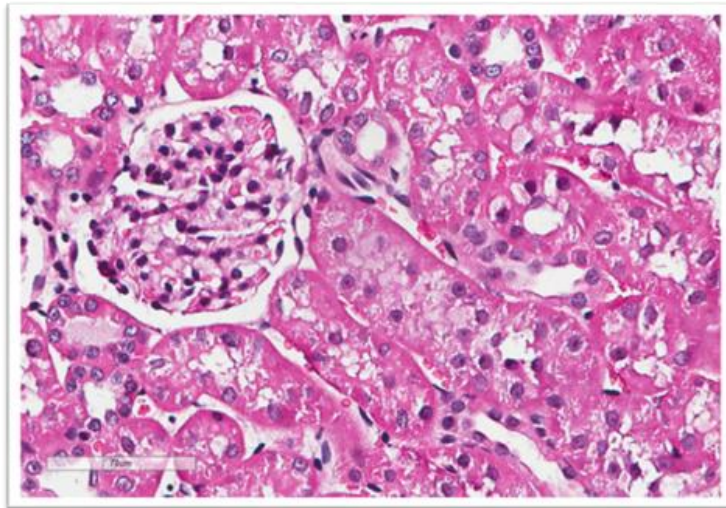


Рисунок 3.4.6 – Морфометрические изменения (увеличение площади почечного тельца, увеличение высоты эпителия проксимального и дистальных канальцев) на 21 сутки ООМ в контралатеральной почке. Окраска гематоксилином-эозином, Ув. х 400.

Анализ морфометрических параметров нефронов в поврежденной почке на 7 сутки ООМ демонстрирует достоверные изменения просвета во всех элементах канальцевой системы. Эти данные отражают механизмы адаптации к повышенного давления образующейся первичной мочи на стенки канальцев, с постепенным сужением в последующие сроки. По аналогичной схеме изменяются площади и диаметры в дистальных канальцах и восходящей части петли, причем

по мере продления обструкции эти значения постепенно уменьшаются и становятся ниже контрольных к 21 суткам.

К 14 суткам регистрировались достоверные изменения площади и диаметра проксимального канальца по описанной выше схеме. Достоверными в этот же срок обструкции стали и изменения размеров площади клубочка.

На 21 сутки ООМ начинала достоверно меняться высота эпителия восходящей части петли Генле. Уже на этом сроке обструкции появляются реакции на физиологическую нагрузку у контралатеральной почки: прогрессирующая гипертрофия эпителиоцитов проксимальных и дистальных канальцев достигает достоверных отличий от контроля. Значимые изменения регистрировались в размерах площади и диаметра проксимальных канальцев (в сторону их увеличения на 22,11 и 10,22% соответственно). Площадь восходящей части петли Генле контралатеральной почки уменьшилась на 24,20%, что говорит о снижении активности обратного всасывания неорганических веществ.

Показательно, что в обструктивной почке сильнее всего изменяются наружные размеры структур нефрона, вероятно вследствие неравномерного переполнения первичной мочой, так как значения просветов различных канальцев на всех сроках крайне вариабельно. Контралатеральная почка начинает реагировать лишь на третью неделю эксперимента, и компенсаторные механизмы здесь направлены на изменение активности транспорта эпителиоцитами канальцев.

3.5. Молекулярные и клеточные изменения в ткани обструктивной и контралатеральной почек в динамике односторонней обструкции мочеточника

Отличительной особенностью фенотипа нормальных эпителиальных клеток служит наличие адгезивных соединений, состоящих из E-cadherin с катениновыми и актиновыми кольцами, а также плотные соединения, связанные с комплексами апикальной полярности и интегрины, взаимодействующие с компонентами

базальной мембраны (рисунок 3.5.1 (а)). При некоторых патологических состояниях эпителиальные клетки утрачивают свои особенности и приобретают свойства мезенхимальных клеток. Согласно данным литературы при ЭМП клетки проходят 4 условные стадии: утрачиваются свойства эпителиальной адгезии в результате деградация E-cadherin (рисунок 3.5.1 (б)), экспрессируется α -гладкомышечный актин (α -SMA); разрушается базальная мембрана канальцев и происходит отслаивание клеток за счет трансформации формы эпителиоцитов и апикального сужения (рисунок 3.5.1 (в)). В результате происходит клеточный переход из эпителиального в мезенхимальный фенотип (рисунок 3.5.1 (г)).

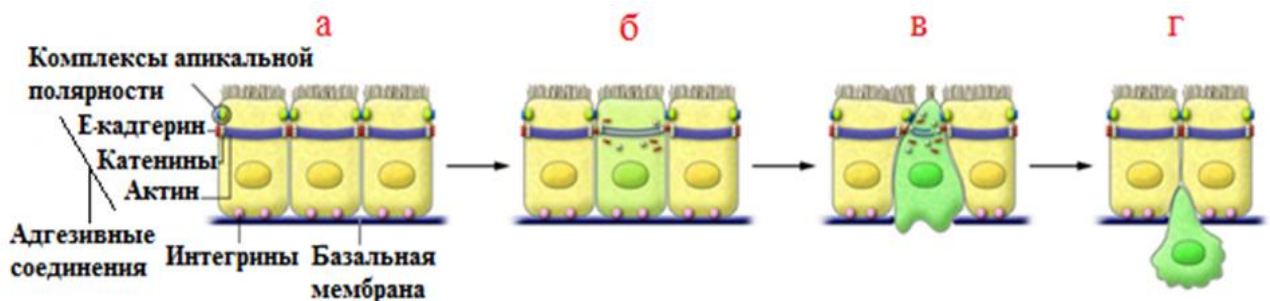


Рисунок 3.5.1. – Клеточные аспекты ЭМП [Liu Y., 2004]

На 7, 14 и 21 сутки ООМ в эпителии нефрона обструктивной почки четко прослеживается хронология трансформации формы эпителиальных клеток от однослойного кубического до неправильной треугольной формы, стремящейся к отслоению от базальной мембраны (рисунок 3.5.1. А).

На 7 и 14 сутки ООМ в эпителии нефрона контралатеральной почки признаков трансформации формы эпителия канальцев не обнаружено. На 21 сутки в канальцевой части нефрона визуализировались единичные эпителиальные клетки неправильной треугольной формы, стремящейся к отслоению от базальной мембраны (рисунок 3.5.1. Б).

Подтверждение последовательной смены фенотипа эпителиальных клеток нефрона получено путем иммунофенотипирования образцов ткани почки на маркеры эпителиального фенотипа (CK7, E-cadherin) и мезенхимального фенотипа (Vim, α -SMA).

С 7 по 21 сутки ООМ в обструктивной почке происходит прогрессивное снижение цитоплазматического окрашивания СК7 эпителиальных клеток проксимальных, дистальных канальцев и собирательных трубочек (рисунок 3.5.2. А). Таким образом, первые признаки изменения фенотипа эпителиальных клеток нефрона имеют место уже на 7 сутки ООМ. К 14 суткам ООМ определяется увеличение просвета собирательных трубочек и канальцев нефрона. К 21 суткам большая часть просвета канальцев значительно эктазирована, выстлана резко уплощенным эпителием, который слабо окрашен СК7.

Визуализация E-Cadherin, который относится к кальций-зависимым белкам клеточной адгезии и вовлечен в механизмы регуляции межклеточной адгезии, клеточной подвижности и пролиферации эпителиальных клеток также снижалась в ходе эксперимента, однако экспрессия маркера была более выраженной в эпителии дистальных извитых канальцев и собирательных трубочек и слабо выражена в эпителии проксимальных извитых канальцев (рисунок 3.5.2. Б). Уменьшение количества белка E-Cadherin в эпителии канальцах нефрона по ходу эксперимента приводит к диссоциации эпителиальных клеток за счет ослабления межклеточных контактов.

Фибробласт-специфические белки α -SMA и Vim являются надежными признаками мезенхимальных продуктов, вырабатываемых при ЭМП, которые возникают во время развития фиброза в различных органах [57]. Исследование маркера ранних этапов ЭМП – Vim установило, что с увеличением срока ООМ регистрируется значительное возрастание числа Vim-позитивных клеток, что подтверждает прогрессию фиброза интерстиция почки (рисунок 3.5.3. А). Начиная с 7 суток ООМ в дистальных извитых канальцах и капсуле клубочка регистрируется появление актинового белка α -SMA, который является маркером мезенхимального фенотипа (рисунок 3.5.3. Б). С увеличением срока обструкции наблюдается увеличение количества α -SMA-позитивных клеток, что свидетельствует об усилении синтеза цитоскелетных белков и дисфункции эпителиальных клеток.

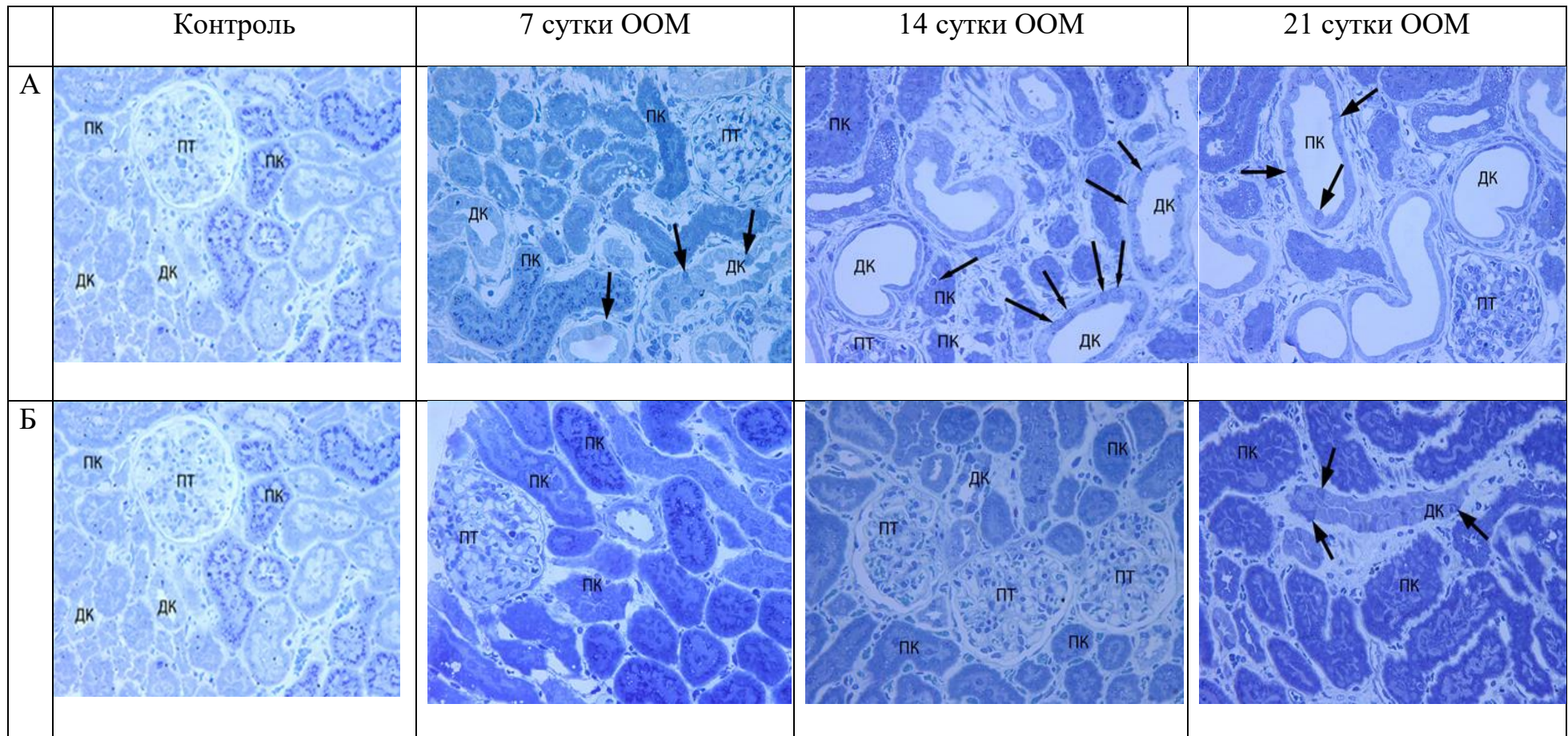


Рисунок 3.5.1. Световое микроскопическое исследование трансформации цитоскелета эпителиальных клеток нефрона А – обструктивной и Б – контрлатеральной почек в динамике ООМ, ПТ-почечное тельце, ДК – дистальный каналец, ПК – проксимальный каналец, (→) трансформированные эпителиальные клетки ДК и ПК. Окраска метиленовым синим; (Окраска метиленовым синим, Ув. х 400)

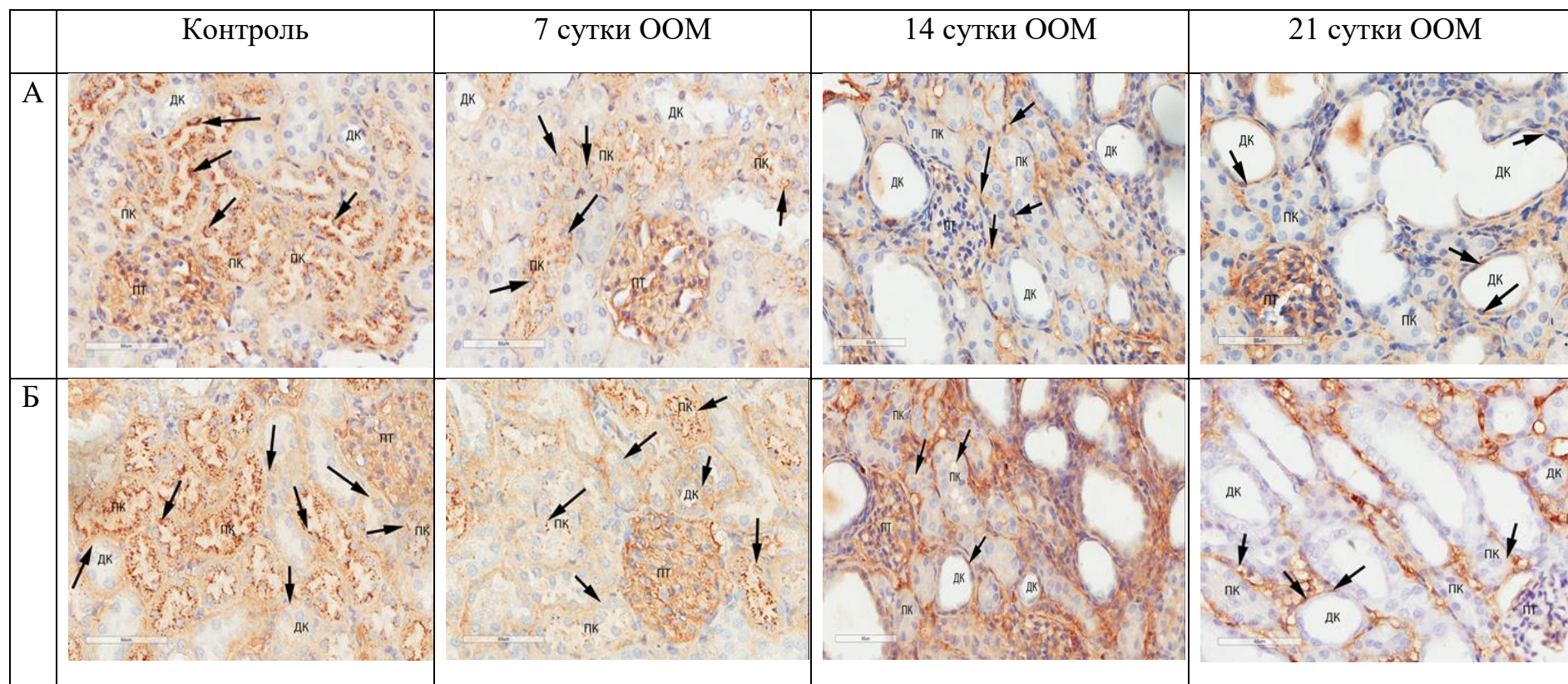


Рисунок 3.5.2. Световое микроскопическое исследование изменения фенотипа эпителиальных клеток канальцев нефрона обструктивной почки в динамике ООМ: А – динамика снижения экспрессии эпителиального маркера СК7 (цитоплазматическая реакция), Б – динамика снижения экспрессии эпителиального маркера E-Cadherin (мембранная реакция), ПТ-почечное тельце, ДК – дистальный каналец, ПК – проксимальный каналец, (→) иммуногистохимическая реакция в эпителиальных клетках ДК и ПК. (Ув. х 400).

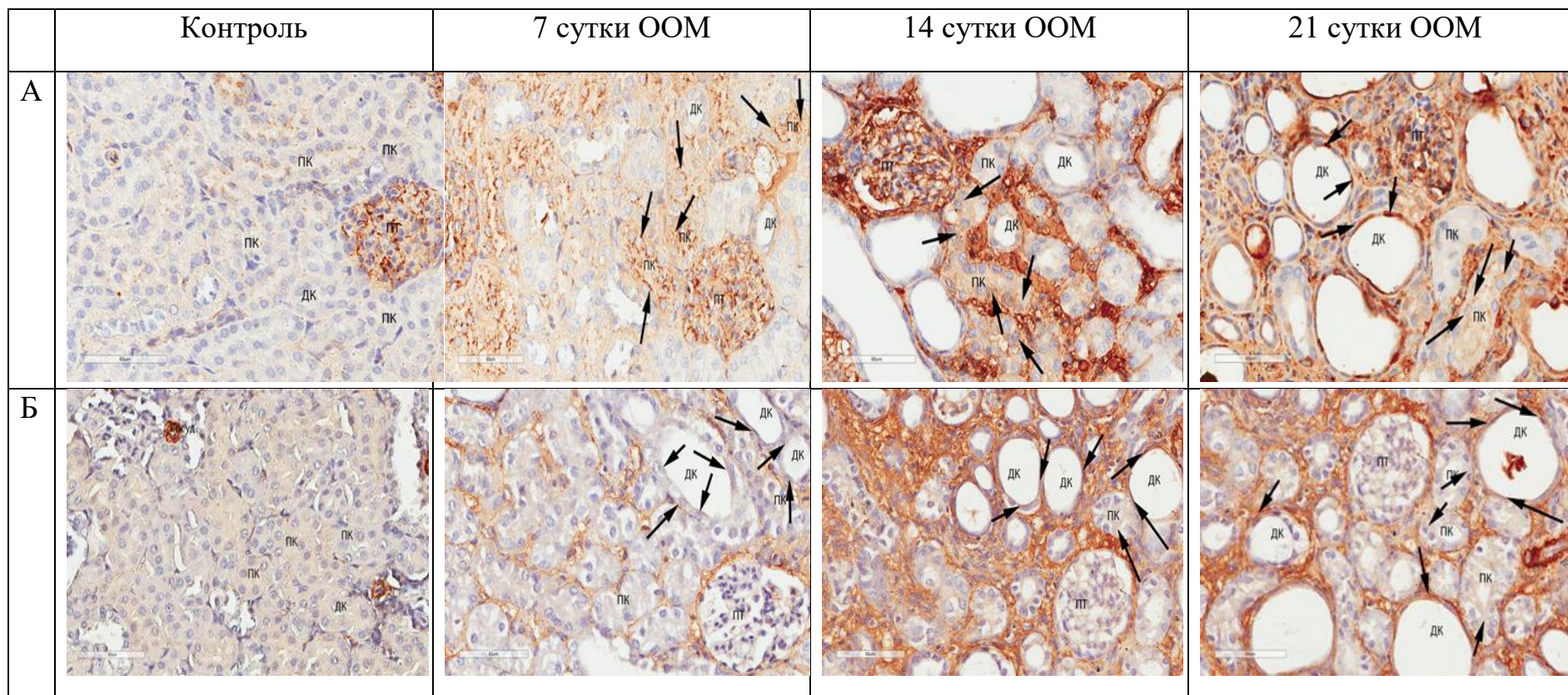


Рисунок 3.5.3. Световое микроскопическое исследование изменения фенотипа эпителиальных клеток канальцев нефрона обструктивной почки в динамике ООМ: А – динамика усиления экспрессии мезенхимального маркера Vim (цитоплазматическая реакция); Б – динамика усиления экспрессии мезенхимального маркера α -SMA (цитоплазматическая реакция), ПТ-почечное тельце, ДК –дистальный каналец, ПК – проксимальный каналец, (→) иммуногистохимическая реакция в эпителиальных клетках ДК и ПК. (Ув. х 400).

Таким образом, уже к 14 суткам ООМ в обструктивной почке имеет место еще один признак ЭМП: переход от цитокератиновых промежуточных филаментов к виментиновым. Наличие маркеров как эпителиального, так и мезенхимального фенотипов одновременно в нефронах обструктивной почки указывает на возможность обратимости процессов при устранении повреждающего фактора.

К 21 суткам ООМ регистрируются грубые структурные изменения в нефронах пораженной почки: эктазия просвета канальцев, уплощение эпителия, в дистальных канальцах - кистозная или псевдокистозная трансформация с резкой атрофией эпителиоцитов. В интерстиции в зонах развития крупных участков межпочечного фиброза, преобладают клетки, экспрессирующие Vim и α -SMA (рисунок 3.5.4. А, Б).

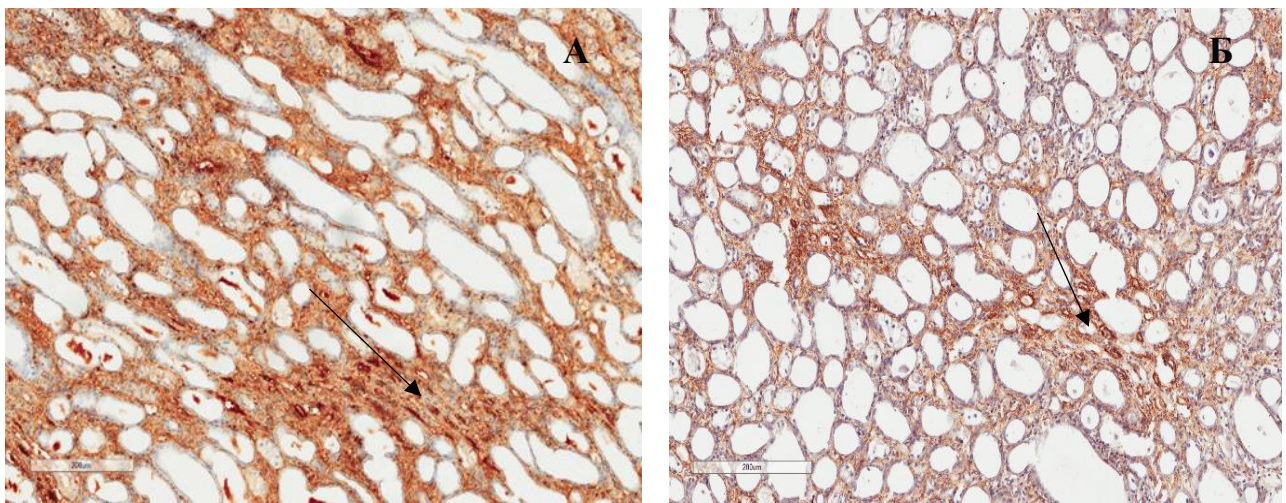


Рисунок 3.5.4. Участки интерстициального фиброза обструктивной почки на 21 сутки ООМ. А – визуализация Vim-позитивных клеток (\rightarrow), Ув. x 200; Б – визуализация α -SMA позитивных клеток (\rightarrow), Ув. x 200.

Иммунофенотипирование контралатеральной почки показало, что экспрессия эпителиальных маркеров (E-Cadherin, CK7) на протяжении всего эксперимента поддерживалась на уровне сопоставимом со здоровой почкой. В динамике эксперимента E-Cadherin определялся в канальцевых сегментах нефрона контралатеральной почки: как в проксимальных, так и дистальных

канальцах. Визуализацию СК7-позитивных клеток регистрировали как в эпителии канальцевых сегментов нефрона, так и в эпителии собирательных трубочек на всех сроках эксперимента (рисунок 3.5.5. Б).

На всех сроках ООМ количество α -SMA позитивных клеток в контралатеральной почке соответствовало контролю (рисунок 3.5.5. Б). Однако, к 21 суткам эксперимента была зафиксирована визуализация Vim не только в почечном тельце, что является нормой, но и диффузно в проксимальных канальцах нефрона контралатеральной почки (рисунок 3.5.5. А, Б). Таким образом, к 21 суткам ООМ на фоне адекватной экспрессии эпителиальных маркеров регистрировалось появление маркера мезенхимального фенотипа, что свидетельствует о реакции эпителия нефрона на увеличение нагрузки.

Хроническая ОУ, вызванная длительной ООМ у кролика, в обструктивной почке морфологически характеризуется интерстициальным фиброзом и эктазией канальцев. Повреждение эпителия приводит к нарушению межклеточных связей как между самими клетками, так и с базальной мембраной, что ведет к нарушению межклеточного взаимодействия, межклеточного транспорта и незащищенности клеток от механического напряжения.

Первые признаки ЭМП проявляются к 7 суткам в виде снижения визуализации маркеров эпителиального фенотипа с сохранением функций нефрона. К 14 суткам отмечается полномасштабная перестройка морфофункциональных свойств эпителиальных клеток нефрона обструктивной почки. К этому сроку в почечных канальцах отмечается визуализация как маркеров эпителиального типа, так и мезенхимального, что говорит об активной конверсии эпителиальных клеток почечных канальцев в виде ЭМП, которые становятся значительным источником миофибробластов при фиброзных изменениях в почках. Прогрессирующий характер перехода эпителиоцитов в клетки мезенхимы отмечается к 21 суткам, что подтверждается практически полной потерей эпителиальных маркеров и приобретением мезенхимальных маркеров.

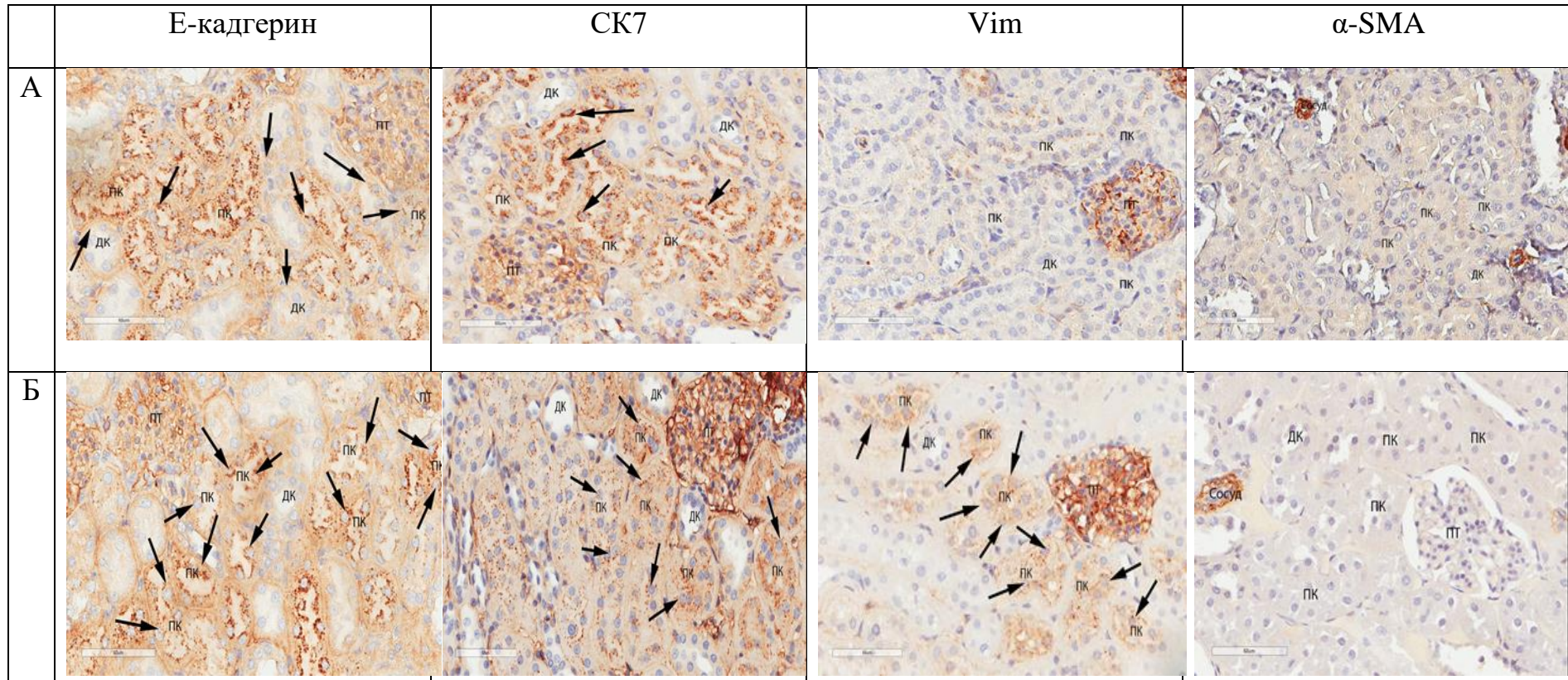


Рисунок 3.5.5. Световое микроскопическое исследование изменения фенотипа эпителиальных клеток канальцев нефрона контралатеральной почки на 21 сут ООМ: А – контроль, Б – визуализация маркеров эпителиального (Е-кадгерин (мембранная реакция); СК7(цитоплазматическая реакция)) и мезенхимального маркеров (Vim (цитоплазматическая реакция) и α -SMA(цитоплазматическая реакция)) в эпителии нефрона; ПТ-почечное тельце, ДК – дистальный каналец, ПК – проксимальный каналец, (→) иммуногистохимическая реакция в эпителиальных клетках ДК и ПК. (Ув. х 400).

Длительная ООМ провоцирует атрофию эпителия или приводит к ЭМП, с изменением фенотипа не только клеток нефрона, но и интерстиция. При иммунофенотипировании ткани обструктивной почки имеют место следующие молекулярно-биологические изменения, подтверждающие активное ремоделирование эпителия: 1) снижение визуализации молекул и структур, определяющих эпителиальный фенотип - E-Cadherin (белка межклеточной адгезии) и СК7 (белка цитоскелета); 2) появление и визуализация структур, определяющих мезенхимальный фенотип – белков цитоскелета (Vim, α -SMA). Визуализация в зонах фиброза α -SMA и Vim указывает на повышение количества мезенхимальных клеток (фибробластов) в ходе эксперимента, что в итоге заканчивается дисфункцией почечной ткани.

Увеличение функциональной нагрузки на контралатеральную почку вследствие ООМ является фактором стресса для эпителиальных клеток почечных канальцев. Иммуногистохимическое исследование компенсаторного органа выявило молекулярно-биологические изменения в эпителии нефрона. В частности, в течение двух недель эксперимента не зарегистрировано изменений иммунофенотипа эпителия нефрона контралатеральной почки, в свою очередь морфологические изменения носят адаптивный характер, не выходя за рамки физиологической нормы с учетом увеличения нагрузки на компенсаторный орган. Визуализация СК7 и четкая экспрессия E-Cadherin в эпителии канальцев нефрона на протяжении всех сроков эксперимента подтверждает сохранение структурной целостности эпителиоцитов и межклеточной адгезии эпителиального пласта канальцевых структур, а, следовательно, и поддержание эффективности, выполняемой ими функции. Эти результаты позволяют говорить о сохранности эпителия нефрона в течение всего периода эксперимента и успешной физиологической адаптации органа к возросшей нагрузке.

Появление маркера мезенхимального фенотипа виментина к 21 суткам ООМ можно расценивать как начальный этап процесса перестройки в эпителиальных клетках канальцев нефрона в ответ на увеличение нагрузки. Даже незначительные изменения фенотипа эпителиальных клеток указывает на

формирование процессов адаптации нефрона к сверхнагрузке, в том числе и через ЭМП. Результаты иммунофенотипирования позволяют полагать, что при увеличении срока обструкции адаптационный резерв контралатеральной почки постепенно снижается и на фоне нарастания необратимых поражений обструктивной почки может значительно повыситься риск развития событий по негативному сценарию в контралатеральной почке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эпидемиологические исследования, проводимые в разных странах, отмечают стойкую тенденцию к росту заболеваемости населения ХБП на фоне обструкции [3]. Однако представлено ограниченное количество сведений о биомаркерах, позволяющих оценить тяжесть повреждения почечной паренхимы, компенсаторные резервы контралатеральной почки, динамику воспалительных процессов у больных с ОУ. В исследованиях последних лет получены убедительные доказательства, что у пациентов с обструктивными уропатиями воспалительные процессы формируются на уровне почечной паренхимы и представляют замкнутую патологическую систему, в которой участвуют тубулярный эпителий [50].

Риск прогрессирования заболевания и эффективность лечения зависят от продолжительности обструкции и своевременной диагностики патологии. Стандартное клиничко-лабораторное обследование, при подозрении на ОУ, не позволяет в полной мере оценить степень повреждения почек, сделать прогноз осложнений, назначить патогенетически обоснованное лечение. Важно подчеркнуть, что в настоящее время существует необходимость создания комплекса клиничко-лабораторных показателей, основанного на анализе молекулярных, биохимических и морфологических изменений почек в динамике заболевания. С учетом высокой социальной значимости ОУ, как заболевания приводящего к инвалидизации молодого трудоспособного населения, изучение клеточных и молекулярных механизмов повреждения обструктивной и контралатеральной почек позволит установить критерии оценки необратимого повреждения почечной ткани, совершенствовать систему диагностики. Выполнить такого рода исследование в клинических условиях маловероятно, в связи с чем, актуальным является изучение последовательности изменений в почках на экспериментальной модели механической обструкции мочеточника.

Поскольку почки парный орган, то повреждения в одной почке приводят к ее функциональному сбою и активации адаптационных механизмов, а в контралатеральной «здоровой» почке к запуску патофизиологических программ компенсации. Результаты выполненной работы позволили установить основные патогенетически значимые морфофункциональные изменения в обструктивной и контралатеральной почках при длительной односторонней обструкции мочеточника (рисунок 4.1).

В ранние сроки (3 -7 сутки) обструкции общесоматические и клинико-лабораторные свидетельства развития патологического процесса отсутствуют. Однако в крови появляются неспецифические маркеры эндогенной интоксикации (МСМ) и продукты перекисного окисления (МДА), которые указывают на наличие патологического процесса. Данные показатели увеличились в 2,2 и в 2,6 раз соответственно уже на 3 сутки ООМ по сравнению с контрольной группой. Этот факт указывает, что причиной развития эндогенной интоксикации у экспериментальных животных явилось нарушение оттока мочи из обструктивной почки. В этот период идет адаптация органа к повышению давления на клетки канальцевой системы нефрона. Этот процесс сопровождается морфологическими изменениями в нефроне. Однако, установленные изменения в этот период носят обратимый характер, на что указывает компенсаторный характер реакций канальцевого аппарата нефрона и отсутствие признаков атрофии клеток эпителия.

Нарушение работы гомеостатических систем, поддерживающих окислительный баланс, является ключевым звеном патогенеза при обструктивных заболеваниях. На мембрану клеток почки действует повреждающий фактор – давление скопившейся уже в первые сутки после обструкции, но не оттекающей мочи. В результате изменяется проницаемость мембраны, в клетку входят ионы натрия, кальция, вода и она отекает, а это в свою очередь приводит к набуханию внутриклеточных органелл (митохондрий, лизосом, эндоплазматического ретикулула). Выше перечисленные события вызывают расстройства биоэнергетики клетки, и как следствие появление продуктов ПОЛ и развитие оксидативного стресса. Таким образом, острое течение заболевания, как показали

результаты исследования, ассоциировано с появлением в ранние сроки в крови экспериментальных животных не элиминированных эндогенных продуктов.



Рисунок 4.1 Схема патогенетических механизмов адаптации и повреждения обструктивной и контрлатеральной почек при односторонней обструкции мочеточника.

На 14 сутки ООМ перечисленные выше функциональные нарушения нарастают и подключаются дополнительные патофизиологические процессы такие как воспаление, ишемия, гипоксия и трофические изменения. В эти сроки помимо фильтрации частично затрагивается и процесс реабсорбции в

обструктивной почке, что подтверждают результаты морфологического исследования. Сужение просвета проксимального канальца и дистрофические изменения в клетках эпителиоцитов указывают на ухудшение реабсорбции, поскольку именно в проксимальном отделе извитого канальца происходит 85% реабсорбции (вода, натрий, калий, фосфаты, аминокислоты, глюкоза). В динамике развития ООМ ишемия почки спровоцирована сдавлением сосудов, в результате повышения внутрипочечного давления из-за нарушения оттока мочи. Чувствительность к ишемии различных органов неодинакова. Клетки почек очень восприимчивы к ней и повреждаются достаточно быстро. В свою очередь нарушение периферического (в пределах органа) кровообращения приводит к гипоксии почечных структур. Гипоксия является патогенетическим фактором в развитии функциональных и структурных нарушений в ткани обструктивной почки. Недостаток кислорода вызывает нарушения биоэнергетики клетки и в свою очередь ее последствия: расстройство функций клеточных мембран, внутриклеточных органелл и других энергозависимых процессов в клетке – синтеза, сокращения, расслабления, обмена электролитов и воды. Прогрессирующий энергодефицит приводит сначала к обратимым, а затем необратимым повреждениям клеток. Степень кислородного голодания и масштаб негативных последствий гипоксии зависит от скорости ее развития, продолжительности, функционального состояния органа. Чувствительность тканей к гипоксии зависит от уровня энергетического обмена в них. Довольно быстро нарушается работа проксимальных извитых канальцев почки. Это подтверждают описанные выше морфологические изменения в нефроне на 14 сутки ООМ. Зарегистрированные дистрофические изменения в эпителии канальца вследствие гипоксии демонстрируют в этот срок эксперимента нарушение трофики клеток и протекающих в них обменных процессов.

Через две недели обструкции в крови экспериментальных животных практически в 2 раза увеличивается содержание малых иммунных комплексов. Именно фракция МИК выводится через почки и прогрессивное нарастание показателя в динамике ООМ свидетельствует об накоплении их в почечных

клубочках, что приводит к развитию воспаления. Таким образом параллельно с ишемией и гипоксией развивается ещё один патофизиологический процесс – воспаление. Подтверждением служит лейкоцитоз в ОАК на 14 сутки ООМ за счет увеличения популяций моноцитов и лимфоцитов. В свою очередь прогрессивное увеличение, в сравнении с 7 сутками эксперимента, в крови кроликов показателей МДА, МСМ и МИК свидетельствует об активной эндотоксемии и нарушении в системе гомеостаза. ЭИ в этот период с одной стороны обусловлена патологической биологической активностью эндогенных продуктов, с другой стороны дисфункцией систем естественной детоксикации. Увеличение уровня МДА – неблагоприятный прогностический показатель. В результате действия продуктов ПОЛ на компоненты клеток (цитоплазма, ядро, мембрана) образуются также их высокоактивные свободнорадикальные продукты. В свою очередь накопление МСМ также усугубляет течение патологического процесса в связи с тем, что они способны приобретать свойства вторичных токсинов. Отсутствие изменений показателей ОАМ в течение первых двух недель эксперимента подтверждает успешную компенсацию выделительной функции контралатеральной «здоровой» почкой.

На 21 сутки ООМ патофизиологические процессы такие как воспаление, ишемия, гипоксия, трофические изменения прогрессируют и уже видны макроскопически. Внешнее проявление ишемии – побледнение ишемизированного участка, и зарегистрировано на фото обструктивной почки на 21 сутки ООМ (рисунок 3.2.6 и рисунок 3.2.7). В эти сроки помимо фильтрации и реабсорбции частично затрагивается и процесс секреции вследствие повреждения как проксимального, так и дистального канальцев обструктивной почки, что подтвердили результаты морфологического исследования. Однако помимо обратимых дистрофических и атрофических в этот срок регистрируются уже необратимые некротические изменения. Следствием сокращения или полного прекращения кровообращения на участке ишемии и развития гипоксии является уменьшение образования АТФ. Резервный путь получения АТФ – анаэробный гликолиз, интенсивность которого при дефиците кислорода значительно

повышается. Гликолиз приводит к накоплению недоокисленных продуктов. Начинают преобладать катаболические процессы, повышается проницаемость лизосом с выходом гидролаз. Все это ведет к грубым дистрофическим и дальнейшим некробиотическим изменениям, что подтверждает гистологически зарегистрированный коагуляционный некроз. Длительная ишемия приводит к атрофии паренхимы и фиброзу в результате повышения коллагенсинтезирующей активности фибробластов, поскольку наименее чувствительны к гипоксии именно клетки мезенхимального происхождения.

Через три недели обструкции в крови экспериментальных животных практически в 3 раза увеличивается содержание МИК, в сравнении с контрольными значениями. Прогрессивное нарастание показателя в динамике ООМ свидетельствует об усилении воспаления, что подтверждается лейкоцитозом в ОАК. Возрастающие значения маркеров ЭИ подтверждают усугубление эндотоксемии, а показатели ОАМ о нарушении в системе гомеостаза. Так на 21 сутки ООМ, в моче кроликов определены кетоновые тела, лейкоциты и белок. Эти данные указывают на дисбаланс системы гомеостаза, перенапряжение компенсаторных реакций в контралатеральной почке, что в свою очередь приводит к ее гипертрофии. В частности, патологическая гипертрофия возникает при увеличении функциональной нагрузки на парный орган, тем самым поддерживая работу выделительной системы в целом.

Таким образом, комплексное исследование динамики односторонней обструкции мочеточника позволило определить структурные и молекулярно-биологические механизмы адаптации нефрона обструктивной и контралатеральной почек, ключевые звенья патогенеза данного заболевания, а также выявить ранние клинико-лабораторных маркеры, указывающие на начало патофизиологического процесса.

ВЫВОДЫ

1. На ранних этапах (3-7 сутки) односторонней обструкции мочеточника общесоматические, морфологические и клинико-лабораторные (ОАМ и ОАК) признаки повреждения обструктивной почки отсутствуют.
2. К 14 суткам эксперимента регистрируются структурные изменения обструктивной почки. Первые признаки эпителиально-мезенхимального перехода клеток нефрона сопровождается дистрофическими изменениями паренхимы и фиброзом в обструктивной почке.
3. Утрата маркеров эпителиального фенотипа, прогрессирующий характер ЭМП в структурных элементах нефрона и интерстиции обструктивной почки на более поздних сроках эксперимента указывают на необратимые морфологические повреждения в пораженном органе.
4. Поддержание гомеостаза обеспечивает контралатеральная почка за счет компенсаторного почечного роста, который реализуется вследствие гипертрофии отделов нефрона, в частности, увеличения площади сосудистых клубочков на 16% в сравнении с контролем (с 3777,25 до 4370,48 мкм²), увеличения диаметра проксимальных канальцев и высоты их эпителия на 10% и 26 % (с 37,59 до 41,46 мкм, с 12,09 до 15,29 мкм) соответственно в сравнении с контролем, увеличения высоты эпителия дистальных канальцев на 26% в сравнении с контролем (с 8,29 до 10,43 мкм) к 21 суткам эксперимента.
5. Появление патологических изменений на 21 сутки эксперимента в контралатеральной почке в виде сетчатого фиброза свидетельствует о перенапряжении компенсаторных реакций и становится основной причиной нарушения гомеостаза, что подтверждается появлением в общем анализе мочи у 67% животных белка, лейкоцитов и у 33% кетоновых тел, а в крови лимфо- и лейкоцитоза, а также высоких цифр ЦИК, МСМ и МДА.
6. Показатели МДА и МСМ в крови экспериментальных животных являются ранними маркерами поражения почки. Данные параметры достоверно увеличились в 2,6 (с 5,85 до 15,36 нмоль/мл) и в 2,2 (с 15,7 до 34,75 усл.ед) раза

соответственно уже на 3 сутки эксперимента у кроликов с обструкцией мочеточника по сравнению с контрольной группой, таким образом их уровень в крови отражает динамику патологического процесса.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

По результатам комплексного динамического исследования для ранней диагностики обструктивного процесса целесообразно использовать неспецифические маркеры эндогенной интоксикации (МСМ, ЦИК) и продукты перекисного окисления (МДА), поскольку в этот период (7-14 сутки ООМ) общесоматические и классические клинико-лабораторные свидетельства развития патологического процесса отсутствуют.

Результаты данной работы могут быть использованы для улучшения качества дифференциальной диагностики ООМ при проведении исследования состояния почек в уронефрологической практике.

Полученные данные о структурных и иммуноморфологических изменениях нефронов в обструктивной и контралатеральной почках, возможно использовать в учебном процессе в медицинских высших учебных заведениях. Экспериментальную модель и особенности методологии – в научно-исследовательской работе.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

E-cadherin	Е – кадгерин
NBF 10 %	раствор нейтрального забуференного формалина 10%
Vimentin/ Vim	виментин
α -SMA	α -гладкомышечный актин
АФК	активные формы кислорода
БИК	большие иммунные комплексы
БМ	базальная мембрана
ВКМ	внеклеточный матрикс
ИГХ	иммуногистохимия
КПР	компенсаторный почечный рост
МДА	малоновый диальдегид
МИК	малые иммунные комплексы
МСК	мультицитокератин АЕ1/АЕ3
МСМ	молекулы средней массы
МПК	мочевого пространства капсулы
МЭП	мезенхимально-эпителиальный переход
ОАК	общий анализ крови
ОАМ	общий анализ мочи
ООМ	односторонняя обструкция мочеточника
ОПП	острое повреждение почек
ОУ	обструктивные уropатии
ПЭГ	полиэтиленгликоль
СК7	цитокератин 7
СКФ	скорость клубочковой фильтрации
ТБК	тиобарбитуровая кислота
ХБП	хронические болезни почек
ХПН	хроническая почечная недостаточность

ЦИК	циркулирующие иммунные комплексы
ЧЛС	чашечно-лоханочная система
ЭИ	эндогенная интоксикация
ЭМП	эпителиально-мезенхимальный переход

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев, А.В. Современные биомаркеры острого повреждения почек / А.В. Алексеев, А.Ж. Гильманов, Р.С. Гатиятуллина, И.Г. Ракипов // Практическая медицина. – 2014. – № 3. – С. 22-27.
2. Антонов, А.Г. Возможности использования маркеров воспаления при мочекаменной болезни, осложненной пиелонефритом / А.Г. Антонов, М.К. Годин // Дальневосточный медицинский журнал. – 2017. – № 2. – С. 93-98.
3. Аполихин, О.И. Заболеваемость мочекаменной болезнью в Российской Федерации (2005-2016 годы) / О.И. Аполихин, А.В. Сивков, В.А. Комарова, М.Ю. и др. // Экспериментальная и клиническая урология. – 2018. – № 4. – С. 4-14.
4. Батюшин, М.М. Эпителиально-мезенхимальная трансформация как один из аспектов репарации почек в рамках хронической нефропатии / М.М. Батюшин, Д.Г. Пасечник, Д.С. Бобылев и др. // Нефрология. – 2015. – №5. – С. 77-80.
5. Березинец, О.Л. Механизмы прогрессирования тубулоинтерстициальных изменений при мочекаменной болезни / О.Л. Березинец, А.Н. Россоловский, Б.И. Блюмберг // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. – 2014. – № 4(1). – С. 87-88.
6. Бородин, Ю.И. Сочетанные морфологические изменения почки и регионального лимфатического узла при экспериментальной почечной недостаточности / Ю.И. Бородин, С.И. Анохин, В.Н. Горчаков // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2012. – № 1. – С. 12-18.
7. Вялкова, А.А. Современные представления о тубулоинтерстициальных нефропатиях и концепция хронической болезни почек в педиатрической нефрологии / А.А. Вялкова // Педиатрия им. Г.Н. Сперанского. – 2008. – № 3. – С. 129-131.
8. Габриэлян, Н.И. Диагностическая ценность определения средних молекул в плазме крови при нефрологических заболеваниях / Н.И. Габриэлян,

А.А. Дмитриев, Г.П. Кулаков и др. // Клиническая медицина. – 1981. – № 9. – С. 38-42.

9. Габриэлян, Н.И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей / Н.И. Габриэлян, В.И. Липатова // Лабораторное дело. – 1984. – № 3. – С. 138-140.

10. Гаврилова, О.А. Особенности процесса перекисного окисления липидов в норме и при некоторых патологических состояниях у детей (обзор литературы) / О.А. Гаврилова // ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA. – 2017. – № 4. – С. 15-22.

11. Галишон, П. Эпителиально-мезенхимальная трансформация как биомаркер почечного фиброза: готовы ли мы применить теоретические знания на практике? / П. Галишон, А. Гертиг // Нефрология. – 2013. – № 17 (4). – С. 9-16.

12. Герасимова, О.Ю. Эпидемиология хронических болезней почек и организация медицинской помощи больным при хронической почечной недостаточности (обзор литературы) / О.Ю. Герасимова, Л.М. Семченко, С.С. Ременец // Южно-уральский медицинский журнал. – 2016. – №4. – С. 4-9.

13. Горячева, Н.В. Модификация определения циркулирующих иммунных комплексов разных величин в сыворотке крови человека / Горячева Н.В., Булава Г.В., Ветошкин А.И. и др. // Клиническая лабораторная диагностика. – 1997. – №5. – С. 77-78.

14. Грене, Г. Нефротический синдром: гистопатологическая дифференциальная диагностика. Часть 3: мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит, IgA нефропатия, диабетическая нефропатия, амилоидоз, пострасплантационная нефропатия / Г. Грене, Е. Кисс // Нефрология. – 2008. – №1. – С. 84-97.

15. Завалеева, С.М. Эволюционно-функциональная морфология животных: учеб. пособие / С.М. Завалеева, Е.А. Сизова, Е.Н. Чиркова. – Оренбург: ГОУ ОГУ, 2010. – 244 с.

16. Западнюк, И.П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И Западнюк, Е.А. Захария и др. // 3-е издание переработанное. – Киев, 1983. – 383 с.
17. Захарова, Е.В. Проблемы диагностики и консервативной терапии хронической почечной недостаточности / Е.В. Захарова // Медицинский совет. – 2010. – №11-12. – С. 47-54.
18. Икромов, Т.Ш. Изучение эндогенной интоксикации и ее коррекция у детей с мочекаменной болезнью / Т.Ш. Икромов, Х.И. Ибодов, Н.С. Ибодов // Детская хирургия. – 2014. – № 6. – С. 32-34.
19. Капсаргин, Ф.П. Современные подходы хирургического лечения мочекаменной болезни / Ф.П. Капсаргин, Е.В Дябкин, А.Г. Бережной // Новости хирургии. – 2013. – № 5. – С. 101-106.
20. Карякина, Е.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) / Е.В. Карякина, С.В. Белова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 3. – С. 3-8.
21. Коломеец, Н.Ю. Результаты морфометрических исследований ткани почек экспериментальных животных / Н.Ю. Коломеец, Н.И. Аверьянова, Н.Ю. Зарницына // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 11. – С. 9-12.
22. Котенко, О.Н. Хроническая болезнь почек. Проблемы и решения. / О.Н. Котенко //Московская медицина. – 2018. – № 1(22). – С. 21-23.
23. Кропачев, А.Ю. Ультраструктура эпителиоцитов проксимальных канальцев почек при варьирующей (непостоянной) окклюзии мочевыводящих путей / А. Ю. Кропачев, А.В. Смирнов, А.Я. Почепцов и др. // Вестник ВолГМУ. – 2008. – № 2(26). – С. 56-59.
24. Кропачев, А.Ю. Разработка модели и морфологическая характеристика почек при неполной (варьирующей) окклюзии мочевыводящих путей / А.Ю. Кропачев, Д.А. Соснин, Г.А. Складенко и др. // Бюлл. Волгоградского научного центра РАМН. – 2008. – №1. – С. 24-26.
25. Лопаткина, Н.А. Урология, национальное руководство / под редакцией акад. РАМН Н.А. Лопаткина. – 2009. – 370 с.

26. Меньшиков, В.В. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / В.В. Меньшиков, Л.Н. Делеторская, Р.П. Золотницкая и др. Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, – 1987. – 368 с.

27. Мухин, Н.А. Снижение скорости клубочковой фильтрации – общепопуляционный маркер неблагоприятного прогноза / Н.А. Мухин // Терапевтический архив. – 2007. – № 6. – С. 6-9.

28. Наволокин, Н.А. Морфологические изменения в почках при различных способах введения, покрытых и непокрытых наночастиц железа / Н.А. Наволокин, Г.Н. Маслякова, А.Б. Бучарская и др. // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. – 2014. – № 1. – С. 47-50.

29. Николайчик, В.В. Способ определения «средних молекул» /В.В. Николайчик, В.М. Моин, В.В. Кирковский // Лабораторное дело. – 1991. – № 10. – С. 13-18.

30. Новикова, М.В. Морфологическая характеристика почек у кошек при гидронефрозе в эксперименте / М.В. Новикова, Г.Г. Егорова // Аграрный вестник Урала. – 2010. – №5 (71). – С. 64-66.

31. Онопко, В.Ф. Сравнительные морфологические особенности клинического и экспериментального гидронефроза / В.Ф. Онопко, О.А. Гольдберг // Медицинский вестник Башкортостана. – 2011. – № 6(2). – С. 113-116.

32. Онопко, В.Ф. Механическая обструкция дистального отдела мочеточника: причины развития и лечения / В.Ф. Онопко, А.А. Соловьев // Сибирский медицинский журнал. – 2006. – № 9. – С. 28-31.

33. Пасечник, Д.Г. Роль эпителиально-мезенхимального перехода в генезе хронической болезни почек и почечно-клеточного рака (проблемы и перспективы) / Д.Г. Пасечник // Научный вестник международного гуманитарного университета. – 2014. – № 6. – С. 30-33.

34. Перлин, Д.В. Малоинвазивные методы лечения мочекаменной болезни / Д.В. Перлин, С.А. Костромеев // Вестник ВолГМУ. – 2010. – № 4 (36). – С. 112-114.

35. Потапов, В.Е. Современные представления о роли эпителиально-мезенхимального перехода в прогрессии хронической болезни почек / В.Е. Потапов, Е.А. Синельник, М.А. Акименко и др. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – № 6(161). – С. 104-109.

36. Репин, В.С. Обратимые эпителио-мезенхимальные трансформации клеток в эмбриогенезе и постнатальном обновлении тканей / В.С. Репин, И.Н. Сабурин // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2006. – № 1(3). – С. 64-72.

37. Сальникова, М.М. Ультраструктура почек крыс при комбинированном воздействии ацетата свинца, ионизирующей радиации и применении лечебно-профилактических средств / М.М. Сальникова, В.Р. Саитов, Е.А. Колганова, // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2018. – № 6(164). – С. 127-133.

38. Свиридова, М.С. Распространённость ХБП I-III стадий в Белгородской области / М.С. Свиридова, О.А. Ефремова, Л.А. Камышникова // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия «Медицина. Фармация». – 2013. – № 4(147). – С. 182-186.

39. Сигитова, О.Н. Хроническая болезнь почек и хроническая почечная недостаточность: современные подходы к терминологии, классификации и диагностике / О.Н. Сигитова // Вестник современной клинической медицины. – 2008. – № 1. – С. 83-87.

40. Скворцов, В.В. Клиническая нефрология: краткий курс / В.В. Скворцов, А.В. Тумаренко. – Санкт-Петербург: Изд-во СпецЛит, 2017. – 199 с.

41. Смирнов, А.В. Ультраструктурные изменения эпителия проксимальных канальцев у крыс при экспериментальном моделировании алиментарного дефицита магния / А.В. Смирнов, Н.Г. Панышин, А.А. Спасов и др. // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2011. – № 2. – С. 12-14.

42. Смирнов, А.В. Национальные рекомендации Хроническая болезнь почек: основные принципы скрининга, диагностики, профилактики и подходы к лечению. – 2012. – С. 3-51.

43. Смирнов, А.В. Острое повреждение почек: концептуальные проблемы / А.В. Смирнов, И.Г. Каюков, В.А. Добронравов и др. // Нефрология. – 2014. – № 18(2). – С. 8-24.
44. Снигур, Г.Л. Значение современных методов патогистологического исследования в диагностике заболеваний почек / Г.Л. Снигур, А.В. Смирнов, М.В. Шмидт и др. // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2014. – № 4. – С. 43-47.
45. Собирова, К.С. Анализ структурно-функционального состояния единственной почки у детей / К.С. Собирова // Теория и практика современной науки. – 2016. – №3(9). – С. 46-49.
46. Сорокина, И.В. Эксперименты с использованием лабораторных животных: некоторые биоэтические аспекты / И.В. Сорокина, Т.С. Оспанова, М.С. Мирошниченко // Философские проблемы биологии и медицины. Стандартизация и персонализация: сборник статей международной конференции. – 2015. – Вып. 9. – С. 168-171.
47. Стальная, И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – 1977. – С. 66–68.
48. Томилина, Н.А. Механизмы нефросклероза и фармакологическая ингибция внутрипочечной ренин-ангиотензиновой системы как основа нефропротективной стратегии при хронических заболеваниях нативных почек и почечного трансплантата / Н.А. Томилина, А.Р. Багдасарян // Нефрология и диализ. – 2004. – № 6(3). – С. 226-234.
49. Топчий, К.И. Процессы перекисного окисления липидов у больных хронической болезнью почек в динамике лечения ингибиторами АПФ и блокаторами АРА / К.И. Топчий, А.Н. Кириенко, Е.Н. Щенявская и др. // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2012. – № 10. – С. 24-28.
50. Хотько, А.И. Лабораторные методы определения эффективности дренирования почки у больных мочекаменной болезнью с обструктивными

уропатиями / А.И. Хотько, Н.Б. Захарова, Д.Н. Хотько и др. // Медицинский академический журнал. – 2016. – № 4. – С. 116-117.

51. Швецов, М.Ю. Хроническая болезнь почек как общемедицинская проблема: современные принципы нефропрофилактики и нефропротективной терапии / М.Ю. Швецов // *Consilium medicum*. – 2014. – № 7. – С. 51-64.

52. Шмойлов, Д.К. Патогенетическая роль эндогенной интоксикации / Д.К. Шмойлов, И.З. Каримов, Т.Н. Одинец // *Лабораторная диагностика*. – 2012. – № 2. – С. 65-69.

53. Шутов, А.М. Хроническая болезнь почек – глобальная проблема XXI века / А.М. Шутов // *Клиническая медицина*. – 2014. – № 5. – С. 5-10.

54. Юрьева, Э.А. Эндогенная интоксикация в патогенезе нефропатий / Э.А. Юрьева, В.С. Сухоруков, Е.С. Воздвиженская и др. // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2015. – № 60. – С. 22-25.

55. Abbas, N.A. SGLT2 inhibitor attenuates renal fibrosis in rats exposed to unilateral ureteric obstruction: potential role of klotho expression. / N.A. Abbas, A.E. Salem, M.M. Awad, [et al.] // *Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* – 2018. – Vol. 391. – P.1347-1360.

56. Alberti, C. Congenital ureteropelvic junction obstruction: physiopathology, decoupling of tout court pelvic dilatation-obstruction semantic connection, biomarkers to predict renal damage evolution / C. Alberti // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2012. – № 16(2). – P. 213-219.

57. Alidadiani, N. Epithelial mesenchymal transition Transcription Factor (TF): The structure, function and microRNA feedback loop / N. Alidadiani, S. Ghaderi, N. Dilaver, [et al.] // *Gene*. – 2018. – Vol. 674. – P. 115-120.

58. Assunção, R.F. Does a Ureteral Obstruction Affect the Contralateral Kidney Morphology? A Stereological Analysis in a Rodent Model / R.F. Assunção, M.A. Pereira-Sampaio, F. Sampaio, [et al.] // *Urol Int.* – 2018. – № 100(3). – P. 327-332.

59. Azurmendi, P.J. Sexual hormones modulate compensatory renal growth and function / P.J. Azurmendi, E.M. Oddo, J.E. Toledo, [et al.] // *Medicina*. – 2013. – Vol. 73. – P. 513-9.
60. Baba, I. Inhibitory effects of fasudil on renal interstitial fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction / I. Baba, Y. Egi, H. Utsumi, [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2015. – Vol. 12. – P. 8010-8020.
61. Barnes, J.L. Renal interstitial fibrosis: a critical evaluation of the origin of myofibroblasts / J.L. Barnes, W.F. Glass // *Contrib Nephrol.* – 2011. – Vol. 169. – P.73-93.
62. Bello, A.K. Assessment of Global Kidney Health Care Status / A.K. Bello, A. Levin, M. Tonelli, [et al.] // *JAMA*. – 2017. – Vol. 317(18). – P. 1864–1919.
63. Berzal, S. TNF-related weak inducer of apoptosis (TWEAK) regulates junctional proteins in tubular epithelial cells via canonical NF- κ B pathway and ERK activation / S. Berzal, C. González-Guerrero, S. Rayego-Mateos, [et al.] // *J Cell Physiol.* – 2015. – Vol. 230(7). – P. 1580-93.
64. Bianco, M. The contralateral kidney presents with impaired mitochondrial functions and disrupted redox homeostasis after 14 days of unilateral ureteral obstruction in mice / M. Bianco, J.A. Lopes, H.V. Beiral, [et al.] // *PLoS One*. – 2019. – Vol. 28. – P. 1214-26.
65. Bolati, D. Indoxyl sulfate, a uremic toxin, downregulates renal expression of Nrf2 through activation of NF- κ B / D. Bolati, H. Shimizu, M Yisireyili, [et al.] // *BMC Nephrol.* – 2013. – Vol. 14(56). – P. 1471-91.
66. Bone, R.S. Sepsis, Sepsis Syndrome, and the Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) Gulliver in Laputa / R.S. Bone // *JAMA*. – 1995. – Vol. 73. – P. 155-156.
67. Bozzola, J.J. *Electron Microscopy. Principles and Techniques for Biologists* / J.J. Bozzola, L.D. Russell // – Boston: Jones and Bartlett Publishers, 1992. – 542 p.
68. Burns, W.C. The role of tubular epithelial-mesenchymal transition in progressive kidney disease / W.C. Burns, P. Kantharidis, M.C. Thomas // *Cells Tissues Organs*. – 2007. – Vol. 185. – P. 222–231.

69. Cavaglieri, R.C. Metformin prevents renal interstitial fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction / R.C. Cavaglieri, R.T. Day, D. Feliers, [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2015. – Vol. 412. – P. 116-122.
70. Chaabane, W. Tack I. Renal functional decline and glomerulotubular injury are arrested but not restored by release of unilateral ureteral obstruction (UUO) / W. Chaabane, F. Praddaude, M. Buleon, [et al.] // *Am. J. Physiol. Physiol.* – 2013. – Vol. 304. – P. 432-439.
71. Chen, J. Telbivudine attenuates UUO-induced renal fibrosis via TGF- β /Smad and NF- κ B signaling / J. Chen, D. Li // *Int. Immunopharmacol.* – 2018. – Vol. 55. – P. 1-8.
72. Chevalier, R.L. Chronic partial ureteral obstruction and the developing kidney / R.L. Chevalier // *Pediatr Radiol.* – 2008. – Vol. 38(1). – P. 35-40.
73. Chevalier, R.L. Counterbalance in functional adaptation to ureteral obstruction during development / R.L. Chevalier // *Pediatr Nephrol.* – 1990. – Vol. 4. – P. 442-444.
74. Chevalier, R.L. The proximal tubule is the primary target of injury and progression of kidney disease: role of the glomerulotubular junction. / R.L. Chevalier // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2016. – Vol. 311(1). – P. 145-161.
75. Chevalier, R.L. Ureteral obstruction as a model of renal interstitial fibrosis and obstructive nephropathy / R.L. Chevalier, M.S. Forbes, B.A. Thornhill // *Kidney Int.* – 2009. – Vol. 75. – P. 1145-1152.
76. Chevalier, R.L. Formation of tubular glomeruli in the developing kidney following chronic urinary tract obstruction / R.L. Chevalier, M.S. Forbes // *Pediatric Nephrology.* – 2011. – Vol. 26 (9). – P. 1381–1385.
77. Chevalier, R.L. Obstructive nephropathy in the neonate is attenuated by epidermal growth factor / R.L. Chevalier, S. Goyal, J.T. Wolstenholme, [et al.] // *Kidney Int.* – 1998. – Vol. 54. – P. 38–47.
78. Chevalier, R.L. Recovery following relief of unilateral ureteral obstruction in the neonatal rat / R.L. Chevalier, A. Kim, B.A. Thornhill, [et al.] // *Kidney Int.* – 1999. – Vol. 55. – P. 793–807.

79. Chevalier, R.L. Mechanisms of renal injury and progression of renal disease in congenital obstructive nephropathy. / R.L. Chevalier, B.A. Thornhill, M.S. Forbes, [et al.] // *Pediatr. Nephrol.* – 2010. – Vol. 25. – P. 687–697.
80. Chiara, L. Emerging Transcriptional Mechanisms in the Regulation of Epithelial to Mesenchymal Transition and Cellular Plasticity in the Kidney / L. Chiara, J. Crean // *J Clin Med.* – 2016. – Vol. 12. – P. 51-64.
81. Chmielewski, M. The peptidic middle molecules: is molecular weight doing the trick? / M. Chmielewski, G. Cohen, A. Wiecek, [et al.] // *Semin Nephrol.* – 2014. – Vol. 34. – P. 118-34.
82. Choi, K.H. Contralateral kidney volume change as a consequence of ipsilateral parenchymal atrophy promotes overall renal function recovery after partial nephrectomy / K.H. Choi, Y.E. Yoon, K.H. Kim, [et al.] // *Int Urol Nephrol.* – 2015. – Vol. 47(1). – P. 25-32.
83. Choi, S.Y. Adaptive functional change of the contralateral kidney after partial nephrectomy / S.Y. Choi, S. Yoo, D. You, [et al.] // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2017. – Vol. 313 (2). – P. 192-198.
84. Chung, S.D. Activating Nrf-2 signaling depresses unilateral ureteral obstruction-evoked mitochondrial stress-related autophagy, apoptosis and pyroptosis in kidney [Electronic resource] / S.D. Chung, T.Y. Lai, C.T. Chien, [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7(10). – Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047299>. [10.10.2012].
85. Cleper, R. Mechanisms of compensatory renal growth / R. Cleper // *Pediatr Endocrinol Rev.* – 2012. – Vol. 10. – P. 152- 63.
86. Coroneos, E. Urinary obstruction causes irreversible renal failure by inducing chronic tubulointerstitial nephritis / E. Coroneos, M. Assouad, B. Krishnan, [et al.] // *Clin Nephrol.* – 1997. – Vol. 48(2). – P. 125-128.
87. Costa, A.F. Surgical Model of Chronic Renal Failure: Study in Rabbits / A.F. Costa, L.P. Pereira, M.L. Ferreira, [et al.] // *Rev Col Bras Cir.* – 2009. – Vol. 36(1). – P. 78-84.

88. Crews, D.C. World Kidney Day Editorial - burden, access, and disparities in kidney disease / D.C. Crews, A.K. Bello, G. Saadi // *J Bras Nefrol.* – 2019. – Vol. 41(1). – P. 1-09.
89. Cruz-Solbes, A.S. Epithelial to Mesenchymal Transition (EMT) and Endothelial to Mesenchymal Transition (EndMT): Role and Implications in Kidney Fibrosis / A.S. Cruz-Solbes, K. Youker // *Results Probl Cell Differ.* – 2017. – Vol. 60. – P. 345-372.
90. Curci, C. Endothelial-to-mesenchymal Transition and Renal Fibrosis in Ischaemia/Reperfusion Injury Are Mediated by Complement Anaphylatoxins and Akt Pathway / C. Curci, G. Castellano, A. Stasi, [et al.] // *Nephrol Dial Transplant.* – 2014. – Vol. 29(4). – P. 799-808.
91. Dabbs, D. Diagnostic Immunohistochemistry (2nd edit.) / D. Dabbs/ – Philadelphia: Churchill Livingstone, Elsevier, 2006. – 848 p.
92. Demirbilek, S. Sulfasalazine reduces inflammatory renal injury in unilateral ureteral obstruction / S. Demirbilek, M.H. Emre, E.N. Aydın, [et al.] // *Pediatr. Nephrol.* – 2007. – Vol. 22. – P. 804–812.
93. Dinkova-Kostova, A.T. The emerging role of Nrf2 in mitochondrial function / A.T. Dinkova-Kostova, A.Y. Abramov // *Free Radic Biol Med.* – 2015. – Vol. 88. – P. 179-188.
94. Docherty, N.G. Evidence that inhibition of tubular cell apoptosis protects against renal damage and development of fibrosis following ureteric obstruction / N.G. Docherty, O.E. O'Sullivan, D.A. Healy // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2006. – Vol. 290. – P. 4-13.
95. Eddy, A.A. Molecular basis of renal fibrosis / A.A. Eddy // *Pediatr Nephrol.* – 2000. – Vol. 15. – P. 290-301.
96. Eyden, B. The myofibroblast: an assessment of controversial issues and a definition useful in diagnosis and research / B. Eyden // *Ultrastruct. Pathol.* – 2001. – Vol. 25. – P. 39-50.
97. Farris, A.B. What is the best way to measure renal fibrosis? A pathologist's perspective / A.B. Farris, C.E. Alpers // *Kidney Int. Suppl.* – 2014. – Vol. 4. – P. 9-15.

98. Forbes, M.S. Chronic unilateral ureteral obstruction in the neonatal mouse delays maturation of both kidneys and leads to late formation of atubular glomeruli / M.S. Forbes, B.A. Thornhill, C.I. Galarreta, [et al.] // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2013. – Vol. 15. – P. 305-12.

99. Funahashi, Y. Ischemic renal damage after nephron-sparing surgery in patients with normal contralateral kidney / Y. Funahashi, R. Hattori, T. Yamamoto, [et al.] // *European urology.* – 2009. – Vol. 55. – P. 209-215.

100. Funahashi, Y. Change in contralateral renal parenchymal volume 1 week after unilateral nephrectomy / Y. Funahashi, R. Hattori, T. Yamamoto, [et al.] // *Urology.* – 2009. – Vol. 74(3). – P. 708-712.

101. Funahashi, Y. Relationship between renal parenchymal volume and single kidney glomerular filtration rate before and after unilateral nephrectomy / Y. Funahashi, R. Hattori, T. Yamamoto, [et al.] // *Urology.* – 2011. – Vol. 77. – P. 1404-1408.

102. Gabbiani, G. The myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases / G. Gabbiani // *J. Pathol.* – 2003. – Vol. 200. – P. 500–503.

103. Gema, M. Genetic Profiling of Epithelial Cells Expressing E-Cadherin Repressors Reveals a Distinct Role for Snail, Slug, and E47 Factors in Epithelial-Mesenchymal Transition / M. Gema, E. Cubillo, D. Sarrio, [et al.] // *Cancer Research.* – 2006. – Vol. 66. – P. 9543-9556.

104. Genoud, Ch. Altered synapse formation in the adult somatosensory cortex of Brain-Derived Neurotrophic Factor heterozygote mice / Ch. Genoud, G.W. Knott, K. Sakata, [et al.] // *J. Neurosci.* – 2004. – Vol. 24(10). – P. 2394-2400.

105. Giamarellos-Bourboulis, E.J. Immunomodulatory clarithromycin treatment of experimental sepsis and acute pyelonephritis caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* / E.J. Giamarellos-Bourboulis, T. Adamis, G. Laoutaris, [et al.] // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* – 2004. – Vol. 48(1). – P. 93-99.

106. Gosmanova, E.O. Acute kidney injury in a patient with unilateral ureteral obstruction / E.O. Gosmanova, D.A. Baumgarten, W.C. O'Neill // *Am J Kidney Dis.* – 2009. – Vol. 54. – P. 775–779.

107. Grgic, I. The origin of interstitial myofibroblasts in chronic kidney disease / I. Grgic, J.S. Duffield, B.D. Humphreys // *Pediatr Nephrol.* – 2012. – Vol. 27(2). – P. 183-193.
108. Grgic, I. Translational profiles of medullary myofibroblasts during kidney fibrosis / I. Grgic, A.M. Krautzberger, A. Hofmeister, [et al.] // *J Am Soc Nephrol.* – 2014. – Vol. 25(9). – P. 1979-1990.
109. Guo, J. Amygdalin inhibits renal fibrosis in chronic kidney disease / J. Guo, W. Wu, M. Sheng, [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2013. – Vol. 7. – P. 1453–1457.
110. Halle, M.P. The profile of patients with obstructive uropathy in Cameroon: case of the Douala General Hospital / M.P. Halle, L.N. Toukep, S.E. Nzuobontane, [et al.] // *Pan African Medical Journal.* – 2016. – Vol. 23. – P. 67-71.
111. Hay, E.D. Organization and fine structure of epithelium and mesenchyme in the developing chick embryo. In *Epithelial-mesenchymal interactions* / E.D. Hay // *Cell Biology of Extracellular Matrix: Second Edition.* – 1968. – Vol. 7. – P. 31-55.
112. Hay, E.D. Transformations between epithelium and mesenchyme: normal, pathological, and experimentally induced / E.D. Hay, A. Zuk // *Am J Kidney Dis.* – 1995. Vol. 26. – P. 678-690.
113. He, J. Role of the endothelial-to-mesenchymal transition in renal fibrosis of chronic kidney disease / J. He, Y. Xu, D. Koya, [et al.] // *Clin Exp Nephrol.* – 2013. – Vol. 17(4). – P. 488-97.
114. Hegarty, N.J. Endothelin in unilateral ureteral obstruction: vascular and cellular effects / N.J. Hegarty, L.S. Young, A.J. O'Neill, [et al.] // *J Urol.* – 2003. – Vol. 169(2). – P.740-744.
115. Hertig, A. Early epithelial phenotypic changes predict graft fibrosis / A. Hertig, D. Anglicheau, J. Verine, [et al.] // *J Am. Soc. Nephrol.* – 2008. – Vol. 19. – P.1584-1591.
116. Hinz, B. Tissue stiffness, latent TGF-beta1 activation, and mechanical signal transduction: implications for the pathogenesis and treatment of fibrosis / B. Hinz // *Curr. Rheumatol. Rep.* – 2009. – Vol. 11. – P. 120–126.

117. Hosper, N.A. Epithelial-to-mesenchymal transition in fibrosis: Collagen type I expression is highly upregulated after EMT, but does not contribute to collagen deposition / N.A. Hosper, P.P. Berg, S. Rond, [et al.] // *Exp. Cell Res.* – 2013. – Vol. 319. – P. 3000–3009.

118. Hosseinian, S. Thymoquinone ameliorates renal damage in unilateral ureteral obstruction in rats / S. Hosseinian, A.K. Rad, A.E. Bideskan, [et al.] // *Pharmacol. Reports.* – 2017. – Vol. 69. – P. 648–657.

119. Humphreys, B.D. Fate tracing reveals the pericyte and not epithelial origin of myofibroblasts in kidney fibrosis / B.D. Humphreys, S.L. Lin, A. Kobayashi, [et al.] // *Am J Pathol.* – 2010. – Vol. 176(1). – P. 85-97.

120. Iwano, M. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis / M. Iwano, D. Plieth, T.M. Danoff, [et al.] // *J Clin Invest.* – 2002. – Vol. 110. – P. 341-350

121. Jang, H.S. Simultaneous deletion of Bax and Bak is required to prevent apoptosis and intersitital fibrosis in obstructive nephropathy / H.S. Jang, B.J. Padanilam // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2015. – Vol. 309. – P. 540-550.

122. Jeon, H.G. Prognostic significance of preoperative kidney volume for predicting renal function in renal cell carcinoma patients receiving a radical or partial nephrectomy / H.G. Jeon, I.H. Gong, J.H. Hwang, [et al.] // *BJU international.* – 2012. – Vol. 109. – P. 1468-1473.

123. Kairemo, K.J. Renal function remains after unilateral total and contralateral partial nephrectomy: an experimental study in pigs using ^{99m}Tc-DTPA / K.J. Kairemo, K. Taari, J.O. Salo, [et al.] // *Urol Res.* – 1996/ – Vol. 24(3). – P. 161-166.

124. Kajikawa, K. Morphological changes of the kidney and bone of rats in chronic cadmium poisoning / K. Kajikawa, I. Nakanishi, K. Kuroda // *Exp. Mol. Pathol.* – 1981. – Vol. 34 (1). – P. 9-24.

125. Kalluri, R. Susceptibility to anti-glomerular basement membrane disease and Goodpasture syndrome is linked to MHC class II genes and the emergence of T cell-mediated immunity in mice / R. Kalluri, T.M. Danoff, H. Okada, [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1997. – Vol. 100. – P. 2263-2275.

126. Kalluri, R. The basics of epithelial-mesenchymal transition / R. Kalluri, R.A. Weinberg // *J. Clin. Invest.* – 2009. – Vol. 119. – P. 1420-1428.

127. Kaneto, H. Osteopontin expression in the kidney during unilateral ureteral obstruction / H. Kaneto, J. Morrissey, R. McCracken, [et al.] // *Miner Electrolyte Metab.* – 1998. – Vol. 24(4). – P. 227-37.

128. Kang, H. Role of Metabolic Reprogramming in Epithelial–Mesenchymal Transition (EMT)/ H. Kang, H. Kim, S. Lee, [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2019. Vol. 20(8). – P. 20-42.

129. Kaushal, G.P. Molecular Interactions Between Reactive Oxygen Species and Autophagy in Kidney Disease / G.P. Kaushal, K. Chandrashekar, L.A. Juncos // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 3. – P. 15-20.

130. Kawada, N. Increased oxidative stress in mouse kidneys with unilateral ureteral obstruction / N. Kawada, T. Moriyama, A. Ando, [et al.] // *Kidney Int.* – 1999. – Vol. 56(3). – P. 1004-1013.

131. Kida, Y. Twist relates to tubular epithelial-mesenchymal transition and interstitial fibrogenesis in the obstructed kidney / Y. Kida, K. Asahina, H. Teraoka, [et al.] // *J Histochem. Cytochem.* – 2007. – Vol. 55. – P. 661-673.

132. Kida, Y. Tubular changes in obstructed kidney of adult mice evaluated using immunohistochemistry for segment-specific marker / Y. Kida, T. Sato // *Histol Histopathol.* – 2007. – Vol. 22(3). – P. 291-303.

133. Kido, T. Fluoride potentiates tubulointerstitial nephropathy caused by unilateral ureteral obstruction / T. Kido, M. Tsunoda, C. Sugaya, [et al.] // *Toxicology.* – 2017. – Vol. 392. – P. 106-118.

134. Kierulf-Lassen, C. Unilateral nephrectomy diminishes ischemic acute kidney injury through enhanced perfusion and reduced pro-inflammatory and pro-fibrotic responses [Electronic resource] / C. Kierulf-Lassen, N.P. Mielisen, H. Qi, [et al.] // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12(12). – Режим доступа:

[https:// doi: 10.1371/journal.pone.0190009](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190009). eCollection 2017. [21.12.2017].

135. Kim, S. Fimasartan, a Novel Angiotensin-Receptor Blocker, Protects against Renal Inflammation and Fibrosis in Mice with Unilateral Ureteral Obstruction:

the Possible Role of Nrf2 / S. Kim, S.J. Kim, H.E. Yoon, [et al.] // *Int. J. Med. Sci.* – 2015. – Vol. 12. – P. 891-904.

136. Klahr, S. Nephrology Forum: obstructive nephropathy / S. Klahr // *Kidney.* – 1998. – Vol. 54. – P. 286-300.

137. Klahr, S. Obstructive nephropathy and renal fibrosis / S. Klahr, J. Morrissey // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2002. – Vol. 283(5). – P. 861-875.

138. Kondratyuk, M.O. Chronic heart failure course prognosis depending on body weight and endogenous intoxication syndrome / M.O. Kondratyuk, O.O. Sorokopud, L.M. Stril'chuk, [et al.] // *Wiad Lek.* – 2019. – Vol. 72(4). – P. 527-531.

139. Kramann, R. Matrix Producing Cells in Chronic Kidney Disease: Origin, Regulation, and Activation [Electronic resource] / R. Kramann, D.P. DiRocco, O.H. Maarouf, [et al.] // *Curr Pathobiol Rep.* – 2013. – Vol. 1(4). – Режим доступа: <https://doi:10.1007/s40139-013-0026-7> [23.08.2013].

140. Kramann, R. Who regenerates the kidney tubule? / R. Kramann, T. Kusaba, B.D. Humphreys // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2015. – Vol. 30. – P. 903-910.

141. Krarup, P.M. Regional changes in renal cortical glucose, lactate and urea during acute unilateral ureteral obstruction / P.M. Krarup, L.B. Stolle, Y.F. Rawashdeh, [et al.] // *J Urol Nephrol.* – 2007. – Vol. 41(1). – P. 47-53.

142. Kriz, W. Pathways to nephron loss starting from glomerular diseases-- Insights from animal models / W. Kriz, M. LeHir // *Kidney Int.* – 2005. – Vol. 67. – P. 404-419.

143. Kumar, G.L. Иммуногистохимические методы: Руководство ДАКО / G.L. Kumar, L. Rudbeck // Пер. с англ. под ред. Г.А.Франка и П.Г. Малькова. – М., 2011. – 224 с.

144. Lamouille, S. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition / S. Lamouille, J. Xu, R. Derynck, [et al.] // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2014. – Vol. 15. – P. 178-196.

145. LeBleu, V.S. Origin and function of myofibroblasts in kidney fibrosis / V.S. LeBleu, G. Taduri, J. O'Connell, [et al.] // *Nat Med.* – 2013. – Vol. 19(8). – P. 1047-53.

146. Lee, C.H. Reversal of Epithelial–Mesenchymal Transition by Natural Anti-Inflammatory and Pro-Resolving Lipids / C.H. Lee // *Cancers (Basel)*. – 2019. – Vol. 11(12). – P. 18-41.

147. Lee, E. H. Effects on renal outcome of concomitant acute pyelonephritis, acute kidney injury and obstruction duration in obstructive uropathy by urolithiasis: a retrospective cohort study / E.H. Lee, S.H. Kim, J.H. Shin, [et al.] // *BMJ Open*. – 2019. – Vol. 9(11). – P. 304-338.

148. Lee, J. The Selective A₃ AR Antagonist LJ-1888 Ameliorates UUO-Induced Tubulointerstitial Fibrosis / J. Lee, I. Hwang, J.H. Lee, [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2013. – Vol. 183. – P. 1488-1497.

149. Lee, K. New insights into the regulation of epithelial-mesenchymal transition and tissue fibrosis / K. Lee, C.M. Nelson // *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* – 2012. – Vol. 294. – P. 171-221.

150. Lee, W.C. Apple polyphenols reduce inflammation response of the kidneys in unilateral ureteral obstruction rats / W.C. Lee, H.Y. Jao, J.D. Hsu, [et al.] // *J. Funct. Foods*. – 2014. – Vol. 11. – P. 1-11.

151. Li, M. Epithelial-mesenchymal transition: An emerging target in tissue fibrosis / M. Li, F. Luan, Y. Zhao, [et al.] // *Exp Biol Med (Maywood)*. – 2016. – Vol. 241(1). – P. 1–13.

152. Li, W.Q. Renovascular morphological changes in a rabbit model of hydronephrosis / W.Q. Li, Z.Q. Dong, X.B. Zhou, [et al.] // *Journal of Huazhong University of Science and Technology*. – 2014. – Vol. 34(4). – P. 575-581.

153. Li, Y.K. The glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analog liraglutide attenuates renal fibrosis / Y.K. Li, D.X. Ma, Z.M. Wang, [et al.] // *Pharmacol. Res.* – 2018. – Vol. 131. – P. 102-111.

154. Lima, M.L. 99m Tc-DTPA Study to Validate an Experimental Model of Ureteral Obstruction in Rabbits: Preliminary Results [Electronic resource] / M.L. Lima, R. Berti, J.C. Moro, [et al.] // *Advances in Urology*. – 2013. – Vol. 1(3). – Режим доступа: [https:// doi: 10.1155/2013/929620](https://doi.org/10.1155/2013/929620) [29.12.2013].

155. Lin, T.A. Autophagy in Chronic Kidney Diseases [Electronic resource]/ T.A. Lin, V.C. Wu, C.Y. Wang, [et al.] // *Cells*. – 2019. – Vol. 8(1). – Режим доступа: [https:// doi: 10.3390/cells8010061](https://doi:10.3390/cells8010061) [16.06.2019].
156. Liu, B. Compensatory renal hypertrophy is mediated by a cell cycle-dependent mechanism / B. Liu, P.A. Preisig // *Kidney Int*. – 2002. – Vol. 62. – P. 1650-1658
157. Liu, Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: Pathologic significance, molecular mechanisms and therapeutic intervention / Y. Liu // *J. Am. Soc. Nephrol*. – 2004. – Vol. 25. – P. 1-9.
158. Liu, Y. Renal fibrosis: new insights into the pathogenesis and therapeutics / Y. Liu // *Kidney Int*. – 2006. – Vol. 69. – P. 213-217.
159. Loboda, A. Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism / A. Loboda, M. Damulewicz, E. Pyza, [et al.] // *Cell Mol Life Sci*. – 2016. – Vol. 73(17). – P. 3221-3247.
160. Lossi, L. Anatomical features for an adequate choice of experimental animal model in biomedicine: II. Small laboratory rodents, rabbit, and pig / L. Lossi, L. D'Angelo, P. De Girolamo, [et al.] // *Ann Anat*. – 2016. – Vol. 204. – P. 11-28.
161. Lovisa, S. Epithelial-to-mesenchymal transition induces cell cycle arrest and parenchymal damage in renal fibrosis / S. Lovisa, V.S. LeBleu, B. Tampe, [et al.] // *Nat Med*. – 2015. – Vol. 21(9). – P. 998-1009.
162. Lovisa, S. Partial Epithelial-to-Mesenchymal Transition and Other New Mechanisms of Kidney Fibrosis / S. Lovisa, M. Zeisberg, R. Kalluri // *Trends Endocrinol Metab*. – 2016. – Vol. 27(10). – P. 681-695.
163. Lucarelli, G. Emerging urinary markers of renal injury in obstructive nephropathy / G. Lucarelli, V. Mancini, V. Galleggiante, [et al.] // *Biomed Res Int*. – 2014. – Vol. 7. – P. 298-303.
164. Luyckx, V.A. Preventing CKD in Developed Countries / V.A. Luyckx, D.Z. Cherney, A.K. Bello, [et al.] // *Kidney Int Rep*. – 2020. – Vol. 5(3). – P. 263–277.

165. Luyckx, V.A. Reducing major risk factors for chronic kidney disease / V.A. Luyckx, K.R. Tuttle, G. Garcia-Garcia, [et al.] // *Kidney Int Suppl.* – 2017. – Vol. 7(2). – P. 71–87.
166. Martínez-Klimova, E. Unilateral Ureteral Obstruction as a Model to Investigate Fibrosis-Attenuating Treatments[Electronic resource] / Martínez-Klimova E., Aparicio-Trejo O.E., Tapia E., [et al.] // *Biomolecules.* – 2019. – Vol. 9(4). – Режим доступа: [https:// doi: 10.3390/biom9040141](https://doi.org/10.3390/biom9040141) [08.04.2019]
167. Misseri, R. TNF-alpha mediates obstruction-induced renal tubular cell apoptosis and proapoptotic signaling / R. Misseri, D.R. Meldrum, C.A. Dinarello, [et al.] // *Am J Physiol.* – 2004. – Vol. 288. – P. 406-411.
168. Miyajima, A. Novel nuclear factor kappaB activation inhibitor prevents inflammatory injury in unilateral ureteral obstruction / A. Miyajima, T. Kosaka, K. Seta, [et al.] // *J Urol.* – 2003. – Vol. 169. – P. 1559–1563.
169. Mullerad, M. The value of quantitative 99m technetium dimercaptosuccinic acid renal scintigraphy for predicting postoperative renal insufficiency in patients undergoing nephrectomy / M. Mullerad, A. Kastin, E. Issaq, [et al.] // *J Urol.* – 2003. – Vol. 169. – P. 24-27.
170. Nagalakshmi, V.K. Changes in cell fate determine the regenerative and functional capacity of the developing kidney before and after release of obstruction / V.K. Nagalakshmi, M. Li, S. Shah, [et al.] // *Clin Sci (Lond).* – 2018. – Vol. 132(23). – P. 2519-2545.
171. Natesan, S. Compensatory changes in enzymes of arginine metabolism during renal hypertrophy in mice / S. Natesan, S.R. Reddy // *Comparative biochemistry and physiology Part B, Biochemistry & molecular biology.* – 2001. – Vol. 130. – P. 585-595.
172. Nelson, A.C. Radiation damage in rat kidney microvasculature / A.C. Nelson, A. Shah-Yukich, R. Babayan // *Scan Electron Microsc.* – 1984. – Vol. 3. – P. 1273-1277.

173. Neuen, B.L. Chronic kidney disease and the global NCDs agenda. [Electronic resource] / B.L. Neuen, S.J. Chadban, A.R. Demaio, [et al.] // *BMJ Glob Health*. – 2017. – Vol. 2(2). – Режим доступа:
[https:// doi: 10.1136/bmjgh-2017-000380](https://doi.org/10.1136/bmjgh-2017-000380) [06.07.2017]
174. Nguyen, H.T. Expression of the Wnt gene family during latenephrogenesis and complete ureteral obstruction / H.T. Nguyen, A.A. Thomson, B.A. Kogan, [et al.] // *Lab Invest*. – 1999. – Vol. 79. – P. 647-658.
175. Nlandu, Y. Middle-molecule uremic toxins: A renewed interest / Y. Nlandu, M. Padden, A. Seidowsky, [et al.] // *Nephrol Ther*. – 2019. – Vol. 15(2). – P. 82-90.
176. Nyengaard, J.R. Glomerular number and size in relation to age, kidney weight, and body surface in normal man / J.R. Nyengaard, T.F. Bendtsen // *The Anatomical record*. – 1992. – Vol. 232. – P. 194-201.
177. Orikasa, S. Obstructive and reflux nephropathy / S. Orikasa, A. Fukuzaki, R. Konda // *Nihon Rinsho*. – 1995. – Vol. 53(8). – P. 2019-2026.
178. Pan, X.H. Transplantation of induced mesenchymal stem cells for treating chronic renal insufficiency [Electronic resource] / X.H. Pan, J. Zhou, X. Yao, [et al.] // *PLoS One*. – 2017. – Vol. 12(4). – Режим доступа:
[https:// doi: 10.1371/journal.pone.0176273](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176273) [26.04.2017].
179. Pardali, E. TGF- β -Induced Endothelial-Mesenchymal Transition in Fibrotic Diseases / E. Pardali, G. Sanchez-Duffhues, M.C. Gomez-Puerto, [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2017. – Vol. 18(10). – P. 21-57.
180. Park, H.C. Postobstructive regeneration of kidney is derailed when surge in renal stem cells during course of unilateral ureteral obstruction is halted / H.C. Park, K. Yasuda, B. Ratliff, [et al.] // *Am J Physiol Renal Physiol*. – 2010. – Vol. 298. – P. 357-364.
181. Pavlisko, E.N. The continued vital role of electron microscopy in the diagnosis of renal disease/dysfunction / E.N. Pavlisko, D.N. Howell // *Ultrastruct Pathol*. – 2013. – Vol. 37(1). – P. 1-8.

182. Pearson, J.M. Value of electron microscopy in diagnosis of renal disease / J.M. Pearson, L.J. McWilliam, J.D. Coyne, [et al.] // *J Clin Pathol.* – 1994. – Vol. 47(2). – P. 126-128.
183. Peters, C.A. Animal models of fetal renal disease / C.A. Peters // *Prenatal Diagnosis.* – 2001. – Vol. 21(11). – P. 917-923.
184. Peters, C.A. The response of the fetal kidney to obstruction / C.A. Peters, M.C. Carr, A. Lais, [et al.] // *J Urol.* – 1992. – Vol. 148. – P. 503-509.
185. Peters, C.A. Fetal compensatory renal growth due to unilateral ureteral obstruction / C.A. Peters, R.C. Gaertner, M.C. Carr, [et al.] // *J Urol.* – 1993. – Vol. 150(2). – P. 597-600.
186. Pianta, T.J. Monitoring treatment of acute kidney injury with damage biomarkers / T.J. Pianta, L. Succar, T. Davidson, [et al.] // *Toxicol Lett.* – 2017. – Vol. 268. – P. 63-70.
187. Piccoli, G.B. What we do and do not know about women and kidney diseases; questions unanswered and answers unquestioned: Reflection on World Kidney Day and International Woman's Day / G.B. Piccoli, M. Alrukhaimi, Z.H. Liu, [et al.] // *Nefrologia.* – 2018. – Vol. 38(2). – P. 114-124.
188. Potts, M.A. Method for location specific histological features for electron microscopy / M.A. Potts // *J. Roy. Microsc. Soc.* – 1965. – Vol. 85. – P. 97-102
189. Qi, W. Transforming growth factor-beta/connective tissue growth factor axis in the kidney / W. Qi, X. Chen, P. Poronnik, [et al.] // *Int J Biochem Cell Biol.* – 2008. – Vol. 40(1). – P. 9-13.
190. Quaggin, S.E. Scar wars: mapping the fate of epithelial-mesenchymal-myofibroblast transition / S.E. Quaggin, A. Kapus // *Kidney Int.* – 2011. – Vol. 80. – P. 41-50.
191. Ricardo, S.D. Antioxidant expression in experimental hydronephrosis: role of mechanical stretch and growth factors / S.D. Ricardo, G. Ding, M. Eufemio, [et al.] // *Am J Physiol.* – 1997. – Vol. 272. – P. 789-798.
192. Rinaldi, M.E. The Nrf2-Keap1 cellular defense pathway and heat shock protein 70 (Hsp70) response. Role in protection against oxidative stress in early

neonatal unilateral ureteral obstruction (UUO) / M.E. Rinaldi, V. Bocanegra, W. Manucha, [et al.] // *Cell Stress Chaperones*. – 2011. – Vol. 16(1). – P. 57-68.

193. Rinschen, M.M. From Molecules to Mechanisms: Functional Proteomics and Its Application to Renal Tubule Physiology / M.M. Rinschen, K. Limbutara, M.A. Knepper, [et al.] // *Physiol Rev*. – 2018. – Vol. 98(4). – P. 2571–2606.

194. Robinson, G. Electron microscopy 2: Tissue preparation, sectioning and staining in: Theory and practice of histological techniques / G. Robinson, T. Gray // Churchill livingstone. – 1990. – P. 525-562.

195. Ruan, G.P. Induced autologous stem cell transplantation for treatment of rabbit renal interstitial fibrosis / G.P. Ruan, F. Xu, Z.A. Li, [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 18. – P. 8-20.

196. Russell, G. Adaptation (biology) / G. Russell, R. Cohn // Bookvika publishing. – 2012. – P. 12.

197. Sakuraya, K. The Synergistic Effect of Mizoribine and a Direct Renin Inhibitor, Aliskiren, on Unilateral Ureteral Obstruction Induced Renal Fibrosis in Rats / K. Sakuraya, A. Endo, T. Someya, [et al.] // *J. Urol*. – 2014. – Vol. 191. –P. 1139-1146.

198. Santos, F. New Insights into the Role of Epithelial–Mesenchymal Transition during Aging [Electronic resource] / F. Santos, C. Moreira, S. Nóbrega-Pereira, [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2019. – Vol. 20(4). – Режим доступа:

[https:// doi: 10.3390/ijms20040891](https://doi:10.3390/ijms20040891). [19.02.2019].

199. Sato, M. Targeted disruption of TGF- β 1/Smad3 signaling protects against renal tubulointerstitial fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction / M. Sato, Y. Muragaki, S. Saika, [et al.] // *J. Clin. Invest*. – 2003. – Vol. 112. – P. 1486-1494.

200. Scaglione, F.E. Comparison between light and electron microscopy in canine and feline renal pathology: a preliminary study / F.E. Scaglione, D. Catalano, R. Bestonso, [et al.] // *J Microsc*. – 2008. – Vol. 232(3). – P. 387-394.

201. Schena, F.P. Renal growth factors: past, present and future / F.P. Schena, G.F. Strippoli, P. Wankelmuth // *Am J Nephrol*. – 1999. – Vol. 19. – P. 308-312.

202. Schmid, M. Novel biomarkers of acute kidney injury: Evaluation and evidence in urologic surgery / M. Schmid, D. Dalela, R. Tahbaz, [et al.] // *World J Nephrol.* – 2015. – Vol. 4(2). – P. 160-168.
203. Schmiedt, C.W. Unilateral Renal Ischemia as a Model of Acute Kidney Injury and Renal Fibrosis in Cats / C.W. Schmiedt, B.M. Brainard, W. Hinson, [et al.] // *Vet Pathol.* – 2016. – Vol. 53(1). – P. 87-101.
204. Sedeek, M. NADPH Oxidases, Reactive Oxygen Species, and the Kidney: Friend and Foe / M. Sedeek, R. Nasrallah, R.M. Touyz, [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2013. – Vol. 24. – P. 1512-1518.
205. Sergio, M. The Fate of Nephrons in Congenital Obstructive Nephropathy: Adult Recovery is Limited by Nephron Number Despite Early Release of Obstruction / M. Sergio, C.I. Galarreta, B.A. Thornhill, [et al.] // *J Urol.* – 2015. – Vol. 194(5). – P. 1463–1472.
206. Shaban, N.Z. Protective role of hesperidin against γ -radiation-induced oxidative stress and apoptosis in rat testis / N.Z. Shaban, A.M. Zahran, F.H. El-Rashidy, [et al.] // *J. Biol. Res. (Thessaloniki).* – 2017. – Vol. 24 (5). – P. 1-11.
207. Siddiqui, M.M. Urologic assessment of decreasing renal function / M.M. Siddiqui, W.S. McDougal // *Med Clin North Am.* – 2011. – Vol. 95(1). – P. 161-8.
208. Soji, K. Deubiquitinase inhibitor PR-619 reduces Smad4 expression and suppresses renal fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction / Soji K., Doi S., Nakashima A., [et al.] // *PLoS ONE.* – 2018. – Vol. 13. – P. 1761-1774.
209. Springer, A. A fetal sheep model for studying compensatory mechanisms in the healthy contralateral kidney after unilateral ureteral obstruction / A. Springer, K. Kratochwill, H. Bergmeister, [et al.] // *J Pediatr Urol.* – 2015. – Vol. 11(6). – P. 352-357.
210. Strutz, F. Identification and characterization of a fibroblast marker: FSP1 / F. Strutz, H. Okada, C.W. Lo // *J Cell Biol.* – 1995. – Vol. 130. – P. 393-405.
211. Strutz, F. Role of basic fibroblast growth factor-2 in epithelial-mesenchymal transformation / F. Strutz, M. Zeisberg, F.N. Ziyadeh, [et al.] // *Kidney Int.* – 2002. – Vol. 61. – P. 1714–1728.

212. Sun, D. Therapeutic Effects of Human Amniotic Fluid-Derived Stem Cells on Renal Interstitial Fibrosis in a Murine Model of Unilateral Ureteral Obstruction / D. Sun, L. Bu, C. Liu, [et al.] // PLoS ONE. – 2013. – Vol. 8. – P. 1145-1152.

213. Sun, Y.B. The origin of renal fibroblasts/myofibroblasts and the signals that trigger fibrosis / Y.B. Sun, X. Qu, G. Caruana, [et al.] // Differentiation. – 2016. – Vol. 92(3). – P. 102-107.

214. Tasanarong, A. Dual Inhibiting Senescence and Epithelial-to-Mesenchymal Transition by Erythropoietin Preserve Tubular Epithelial Cell Regeneration and Ameliorate Renal Fibrosis in Unilateral Ureteral Obstruction [Electronic resource] / A. Tasanarong, S. Kongkham, S. Khositseth // Biomed Res. Int. – 2013. – Режим доступа: [https:// doi: 10.1155/2013/308130](https://doi.org/10.1155/2013/308130). [19.11.2013].

215. Tashiro, K. Attenuation of renal fibrosis by proteasome inhibition in rat obstructive nephropathy: possible role of nuclear factor kappaB / K. Tashiro, S. Tamada, N. Kuwabara // Int J Mol Med. – 2003. – Vol. 12. – P. 587-592.

216. Teng, Y. Transcriptional regulation of epithelial-mesenchymal transition / Y. Teng, M. Zeisberg, R. Kalluri // J Clin. Invest. – 2007. – Vol. 117. – P. 304–306.

217. Thiery, J.P. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions / J.P. Thiery, J.P. Sleeman // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2006. – Vol. 7(2). – P. 131-142.

218. Thomson, T.M. Metabolic Plasticity and Epithelial-Mesenchymal Transition / T.M. Thomson, C. Balcells, M. Cascante // J Clin Med. – 2019. – Vol. 8(7). – P. 967.

219. Thornhill, B.A. Variable chronic partial ureteral obstruction in the neonatal rat: A new model of ureteropelvic junction obstruction / B.A. Thornhill, L.A. Burt, C. Chen, [et al.] // Kidney Int. – 2005. – Vol. 67. – P. 42–52.

220. Thornhill, B.A. Glomerulotubular disconnection in neonatal mice after relief of partial ureteral obstruction / B.A. Thornhill, M.S. Forbes, E.S. Marcinko, [et al.] // Kidney Int. – 2007. – Vol. 72. – P. 1103-1112.

221. Tomasek, J.J. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodeling / J.J. Tomasek, G. Gabbiani, B. Hinz, [et al.] // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2002. – Vol. 3. – P. 349-363.
222. Tonelli, M. Chronic kidney disease and mortality risk: a systemic review / M. Tonelli, N. Wiebe, A. House, [et al.] // *J Am Soc Nephrol.* – 2006. – Vol. 17. – P. 2034-2047.
223. Truong, L.D. Renal cell apoptosis in chronic obstructive uropathy: the roles of caspases / L.D. Truong, Y.J. Choi, C.C. Tsao, [et al.] // *Kidney Int.* – 2001. – Vol. 60(3). – P. 924-934.
224. Truong, L.D. Experimental chronic renal ischemia: morphologic and immunologic studies / L.D. Truong, A. Farhood, J. Tasby, [et al.] // *Kidney Int.* – 1992. – Vol. 41(6). – P. 1676-1689.
225. Truong, L.D. Obstructive uropathy / L.D. Truong, L. Gaber, G. Eknoyan // *Contrib Nephrol.* – 2011. – Vol. 169. – P. 311-326.
226. Truong, L.D. Cell apoptosis and proliferation in experimental chronic obstructive uropathy / L.D. Truong, G. Petrussevska, G. Yang, [et al.] // *Kidney Int.* – 1996. – Vol. 50(1). – P. 200-207.
227. Truong, L.D. Cell apoptosis and proliferation in obstructive uropathy / L.D. Truong, D. Sheikh-Hamad, S. Chakraborty, [et al.] // *Semin Nephrol.* – 1998. – Vol. 18(6). – P. 641-651.
228. Truong, L.D. Macrophage A2A Adenosine Receptors Are Essential to Protect from Progressive Kidney Injury / L.D. Truong, J. Trostel, R. McMahan, [et al.] // *Am J Pathol.* – 2016. – Vol. 186(10). – P. 2601-2613.
229. Uceru, A.C. TNF-related weak inducer of apoptosis (TWEAK) promotes kidney fibrosis and Ras-dependent proliferation of cultured renal fibroblast / A.C. Uceru, A. Benito-Martin, I. Fuentes-Calvo, [et al.] // *Biochim Biophys Acta.* – 2013. – Vol. 1832(10). – P. 1744-1755.
230. Uceru, A.C. Unilateral ureteral obstruction: beyond obstruction / A.C. Uceru, A. Benito-Martin, M.C. Izquierdo, [et al.] // *Int. Urol. Nephrol.* – 2014. – Vol. 46. – P. 765-776.

231. Vaughan, E.D. Pathophysiology of unilateral ureteral obstruction: Studies from Charlottesville to New York / E.D. Vaughan, D. Marion, D.P. Poppas // *J Urol.* – 2004. – Vol. 172. – P. 2563-2569.
232. Vincent, I.S. Biology of Renal Recovery: Molecules, Mechanisms and Pathways / I.S. Vincent, M.D. Okusa // *Nephron Clin Pract.* – 2014. – Vol. 127. – P. 10-14.
233. Vogetseder, A. Proliferation capacity of the renal proximal tubule involves the bulk of differentiated epithelial cells / A. Vogetseder, N. Picard, A. Gaspert // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2008. – Vol. 294. – P. 22-28.
234. Waikar, S.S. Creatinine as the gold standard for kidney injury biomarker studies? / S.S. Waikar, R.A. Betensky, J.V. Bonventre, [et al.] // *Nephrol Dial Transplant.* – 2009. – Vol. 24. – P. 3263-3265.
235. Wamsley-Davis, A. AT1A-mediated activation of kidney JNK1 and SMAD2 in obstructive uropathy: preservation of kidney tissue mass using candesartan / A. Wamsley-Davis, R. Padda, L.D. Truong, [et al.] // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2004. – Vol. 287(3). – P. 474-480.
236. Wang, H. β -Aminoisobutyric acid ameliorates the renal fibrosis in mouse obstructed kidneys via inhibition of renal fibroblast activation and fibrosis / H. Wang, J. Qian, X. Zhao, [et al.] // *J. Pharmacol. Sci.* – 2017. – Vol. 133. – P. 203-213.
237. Wei, Z. Anti-renal fibrosis effect of asperulosidic acid via TGF- β 1/smad2/smad3 and NF- κ B signaling pathways in a rat model of unilateral ureteral obstruction / Z. Wei, D. Yaqian, Z. Dan, [et al.] // *Phytomedicine.* – 2019. – Vol. 53. – P. 274-285.
238. Wuhl, E. Timing and outcome of renal replacement therapy in patients with congenital malformations of the kidney and urinary tract / E. Wuhl, K.J. Stralen, E. Verrina, [et al.] // *Clin J Am Soc Nephrol.* – 2013. – Vol. 8. – P. 67-74.
239. Xia, Z.E. 3,3'-Diindolylmethane ameliorates renal fibrosis through the inhibition of renal fibroblast activation in vivo and in vitro / Z.E. Xia, J.L. Xi, L. Shi // *Ren. Fail.* – 2018. – Vol. 40. – P. 447-454.

240. Xianyuan, L. Anti-renal fibrosis effect of asperulosidic acid via TGF- β 1/smad2/smad3 and NF- κ B signaling pathways in a rat model of unilateral ureteral obstruction / L. Xianyuan, Z. Wei, D. Yaqian, [et al.] // *Phytomedicine*. – 2019. – Vol. 53. – P. 274-285.

241. Xu, W. Astragaloside IV Ameliorates Renal Fibrosis via the Inhibition of Mitogen-Activated Protein Kinases and Antiapoptosis In Vivo and In Vitro / W. Xu, X. Shao, L. Tian, [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2014. – Vol. 350. – P. 552-562.

242. Yang, C.W. Global Case Studies for Chronic Kidney Disease/End-Stage Kidney Disease Care / C.W. Yang, D. Harris, V.A. Luyckx, [et al.] // *Kidney Int Suppl.* – 2020. – Vol. 10(1). – P. 24-48.

243. Yazici, M. Current radiological techniques used to evaluate unilateral partial ureteral obstruction: an experimental rabbit study / M. Yazici, S. Celebi, Ö. Kuzdan, [et al.] // *International Urology and Nephrology*. – 2015. – Vol. 47(7). – P. 1045-1050.

244. Yeh, C.H. Unilateral ureteral obstruction evokes renal tubular apoptosis via the enhanced oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in the rat / C.H. Yeh, H.S. Chiang, T.Y. Lai, [et al.] // *Neurourol Urodyn.* – 2011. – Vol. 30(3). – P. 472-479.

245. Yoo, K.H. Compensatory renal growth due to neonatal ureteral obstruction: implications for clinical studies / K.H. Yoo, B.A. Thornhill, M.S. Forbes, [et al.] // *Pediatr Nephrol.* – 2006. – Vol. 21. – P. 368-375.

246. Yoo, K.H. Inducible nitric oxide synthase modulates hydronephrosis following partial or complete unilateral ureteral obstruction in the neonatal mouse / K.H. Yoo, B.A. Thornhill, M.S. Forbes, [et al.] // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2010. – Vol. – 298. – P. 62-71.

247. Zeisberg, E.M. Fibroblasts in kidney fibrosis emerge via endothelial-to-mesenchymal transition / E.M. Zeisberg, S.E. Potenta, H. Sugimoto, [et al.] // *J Am Soc Nephrol.* – 2008. – Vol. 19(12). – P. 2282-2287.

248. Zeisberg, M. Renal fibrosis: collagen composition and assembly regulates epithelial-mesenchymal transdifferentiation / M. Zeisberg, G. Bonner, Y. Maeshima, [et al.] // *Am J Pathol.* – 2001. – Vol. 159(4). – P. 1313-1321.

249. Zeisberg, M. Cellular mechanisms of tissue fibrosis. 1. Common and organ-specific mechanisms associated with tissue fibrosis / M. Zeisberg, R. Kalluri // *Am J Physiol Cell Physiol*. – 2013. – Vol. 304. – P. 216-225.

250. Zeisberg, M. Fibroblasts emerge via epithelial-mesenchymal transition in chronic kidney fibrosis / M. Zeisberg, R. Kalluri // *Front. Biosci*. – 2008. – Vol. 13. – P. 6991-6998.

251. Zeisberg, M. The role of epithelial-to-mesenchymal transition in renal fibrosis / M. Zeisberg, R. Kalluri // *J Mol. Med. (Berl)*. – 2004. – Vol. 82. – P. 175-181.

252. Zeisberg, M. Renal fibrosis. Extracellular matrix microenvironment regulates migratory behavior of activated tubular epithelial cells / M. Zeisberg, Y. Maeshima, B. Mosterman, [et al.] // *Am J Pathol*. – 2002. – Vol. 160(6). – P. 2001-2008.

253. Zhang, A. miRNA-23a/27a attenuates muscle atrophy and renal fibrosis through muscle-kidney crosstalk / A. Zhang, M. Li, B. Wang, [et al.] // *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. – 2018. – Vol. 9(4). – P. 755-770.

254. Zhao, X.C. Cell Apoptosis and Autophagy in Renal Fibrosis / X.C. Zhao, M.J. Livingston, X.L. Liang, [et al.] // *Adv Exp Med Biol*. – 2019. – Vol. 1165. – P. 557-584.

255. Zhou, X.J. The aging kidney / X.J. Zhou, D. Rakheja, X. Yu, [et al.] // *Kidney international*. – 2008. – Vol. 74. – P. 710-720.

256. Zimmerman, D.L. The effect of angiotensin-(1-7) in mouse unilateral ureteral obstruction / D.L. Zimmerman, J. Zimpelmann, F. Xiao, [et al.] // *Am J Pathol*. – 2015. – Vol. 185(3). P. 729-740.