

## АНАЛИЗ РАЗВИТИЯ ЮКСТАГЛОМЕРУЛЯРНОГО АППАРАТА ПОЧЕК В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ

Сологуб А.А.<sup>1</sup>, Слесарева Е.В.<sup>1</sup>, Кузнецова Т.И.<sup>1</sup>, Смирнова Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», Ульяновск, e-mail: gistology2@mail.ru

В связи с ростом числа больных артериальной гипертензией среди детей исследование особенностей формирования почек как основного органа, регулирующего артериальное давление, является весьма актуальным. Особенный интерес в контексте артериальной гипертензии представляет формирование юкстагломерулярного аппарата в онтогенезе, так как он играет важную роль в регулировании артериального давления за счет эндокринной функции. Цель исследования: изучить динамику роста и дифференцировки ренинпродуцирующего аппарата почек в период постнатального онтогенеза в зависимости от типа нефрона. Исследование проведено на аутопсийном материале. Сформировано шесть возрастных групп без учета половой принадлежности: 2–4 месяца, 6–9 месяцев, 10–12 месяцев, 3 года, 6 лет, 10 лет. Для морфометрического определения ренин-продуцирующих клеток использовали иммуногистохимическую методику визуализации с помощью первичных поликлональных антител к ренину. Проводился подсчет суммарной площади ренин-позитивных клеток в субкортикальной и околомозговой зонах коркового вещества почек во всех возрастных группах. Статистическую обработку проводили в программе Statistica 8.0. Выявлено, что увеличение суммарной площади ренин-позитивных клеток юкстагломерулярного аппарата в субкортикальных и околомозговых нефронах происходит с различной скоростью. В субкортикальном слое процесс на протяжении первых 6 лет идет прогрессивно линейно, тогда как в околомозговой зоне площадь, занимаемая ренин-позитивными клетками, с 10–12 месяцев до 3 лет оказывается ниже значений, как полученных для субкортикального слоя того же возраста, так и данного показателя в более раннем возрасте (6 месяцев). Это свидетельствует о значительном росте канальцевых структур околомозгового и мозгового вещества с 1 года до 3 лет и более поздней дифференцировке почечных тел. Начиная с 6-летнего возраста площадь ренинпозитивных клеток в околомозговых нефронах становится больше, чем в субкортикальных, что подтверждает нашу гипотезу о преимущественно эндокринной функции юкстамедулярных нефронов.

Ключевые слова: ренин, юкстагломерулярный аппарат (ЮГА), почки, субкортикальные нефроны, околомозговые нефроны, артериальное давление (АД).

## ANALYSIS OF DEVELOPMENT OF JUXTAGLOMERULAR KIDNEY APPARATUS IN CHILD AGE

Sologub A.A.<sup>1</sup>, Slesareva E.V.<sup>1</sup>, Kuznetsova T.I.<sup>1</sup>, Smirnova E.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, e-mail: gistology2@mail.ru

In connection with the increase in the number of patients with arterial hypertension in children population, reserching of the features of the development of the kidneys, as the main organ that regulates blood pressure, is relevant. The most interesting is the formation of the juxtaglomerular apparatus in ontogenesis, becose it plays very important role in the regulation of blood pressure due to endocrine function. Purpose of the reserch: explore the dynamics of growth and differentiation of the renin-productive apparatus of the kidneys during postnatal ontogenesis, depending on the type of nephron. This explore was made on autopsy material. Six age groups were formed without regard to gender: 2–4 months, 6–9 months, 10–12 months, 3 years, 6 years, 10 years. For the morphometric determination of renin-positive cells, an immunohistochemical visualisation technique was used with primary polyclonal antibodies to renin. The total area of renin-positive cells in the subcortical and perimedullary zones of the renal cortex was calculated in all age groups. Statistical processing was conducted with using the Statistica 8.0 program. It was revealed that the increase in the total area of renin-positive cells of the juxtaglomerular apparatus in subcortical and perimedullary nephrons occurs at different rates. In the subcortical layer, the process proceeds progressively and linearly during the first 6 years, while in the perimedullary zone, the area occupied by renin-positive cells from 10–12 months to 3 years is lower than the values obtained both for the subcortical layer of the same age and below this indicator at an earlier age (6 months). This indicates a significant increase in the tubular structures of the perimedullary and medullary from 1 year to 3 years and later differentiation of the renal corpus. Starting from the 6 age, the area of renin-positive cells in the perimedullary nephrons becomes larger than in the subcortical nephrones, and this fact confirms our hypothesis about the predominantly endocrine function of juxtamedullary nephrons.

Keywords: renin, juxtaglomerular apparatus (JGA), kidneys, subcortical nephrons, perimedular nephrons, blood pressure (BP).

Артериальная гипертензия (АГ) по-прежнему остается одной из наиболее актуальных медицинских и социальных проблем, так как является одним из самых распространенных заболеваний во всем мире. Несмотря на значительное количество исследований в данной области, патоморфоз АГ еще остается малоизученным [1, с. 581]. Кроме того, следует отметить, что АГ является одним из ведущих факторов смертности населения, по данным ВОЗ, так как приводит к серьезным сердечно-сосудистым осложнениям, таким как инфаркт миокарда и инсульт [2, 3]. У больных АГ до 7 раз чаще проявляется инсульт и в 3–4 раза чаще формируется ишемическая болезнь сердца [2, 4]. Группой исследователей из США (В.Л. Роджер, А.С. Го, Д.М. Ллойд-Джонс) установлено, что у 69% пациентов, впервые столкнувшихся с инфарктом миокарда, а также у 77% страдающих от сердечной недостаточности и у 77% пациентов, которые перенесли инсульт, диагностирована артериальная гипертензия в анамнезе, которая длительное время протекала без медикаментозного контроля [5].

Также наблюдается мировая тенденция к росту числа больных, страдающих АГ, среди пациентов детского возраста (до 18% от всей популяции страдающих АГ людей) [6, 7], согласно статистическим данным, даже дети младше 7 лет имеют артериальную гипертензию в 1–14% случаев [6, 7]. Кроме того, известен факт, описанный белорусскими исследователями профессором А.В. Сукало и доцентом А.К. Ткаченко, что у детей с рождения снижена скорость клубочковой фильтрации (СКФ), эффективной СКФ становится к возрасту 18 месяцев [8], что дает основания предполагать, что в детском возрасте при развитии почек структуры формируются неравномерно, соответственно, отклонения от нормы, способные привести к развитию артериальной гипертензии, могут возникнуть на разных этапах формирования почек.

Особенный интерес в контексте артериальной гипертензии для исследования представляет формирование юкстагломерулярного аппарата (далее ЮГА) в онтогенезе, так как именно данная структура играет важную роль в регулировании артериального давления за счет своей эндокринной функции [9]. Исследование ЮГА началось с открытия ренина в конце XIX в., и до настоящего момента эти исследования не завершены [10].

В почечной паренхиме различают три типа нефронов – субкортикальные, промежуточные, околомозговые, строение которых имеет значительные отличия. Единого мнения о том, какой вклад вносит каждый тип нефронов в эндокринную функцию почек в связи с особенностями строения этих нефронов, до настоящего времени нет.

В связи с вышеизложенным исследование особенностей развития и формирования почек как основного органа, отвечающего за регулирование артериального давления (АД), а

именно изучение развития эндокринного аппарата нефронов в детском возрасте в зависимости от типа их строения и возрастной принадлежности, является весьма актуальным.

**Цель исследования.** Изучить динамику роста и дифференцировки ренин-продуцирующего аппарата почек в период постнатального онтогенеза в зависимости от типа нефронов.

**Материал и методы исследования.** Исследование было проведено на аутопсийном, гистологическом материале почек пациентов детского возраста из практики патологоанатомического отделения ГУЗ УОДКБ им. политического и общественного деятеля Ю.Ф. Горячева, с разрешения законных представителей пациентов. Дизайн исследования соответствовал принципам научных исследований, изложенным в WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, и был одобрен локальным Этическим комитетом и научно-координационным советом Института медицины, экологии и физической культуры УлГУ (протокол № 3/19 от 20.11.2019). Всего было проанализировано 60 аутопсийных случаев пациентов детского возраста от 2 месяцев до 10 лет, все случаи были разделены на 6 возрастных групп без учета половой принадлежности: 1-я группа – 2–4 месяца, 2-я группа – 6–9 месяцев, 3-я группа – 10–12 месяцев, 4-я группа – 3 года, 5-я группа – 6 лет, 6-я группа – 10 лет. В каждую группу было включено по 10 аутопсийных случаев пациентов соответствующего возрастного диапазона, не имеющих заболеваний сердечно-сосудистой, эндокринной, мочевыделительной систем.

Исследуемый материал подготавливали по стандартной гистологической методике: фиксировали в нейтральном забуференном формалине, затем заливали парафиновые блоки с последующей окраской препаратов гематоксилином-эозином, что позволило провести морфометрическое исследование и определить все структуры коркового и мозгового вещества.

Для морфометрического определения ЮГА использовали иммуногистохимическую (далее ИГХ) методику визуализации с помощью первичных поликлональных антител к ренину. Парафиновые срезы монтировали на предметные стекла с поли-L-лизином, срезы инкубировали с первичными моноклональными антителами Antirenin antibody («CloudClone»). Рабочую концентрацию антител определяли исходя из рекомендаций производителя на материале с достоверной экспрессией данных антител. Иммуногистохимическое окрашивание производили с использованием системы детекции Cell Marque DAB 3s kit. После доокрашивания гематоксилином препараты подвергались дегидратации, просветлению и заключению под покровные стекла.

Морфометрию проводили с помощью исследовательского микроскопа Levenhuk Med 900, фотовидеокамеры для микроскопа Levenhuk M800Plus и программного обеспечения

LevenhukLite. В ходе исследования проводился подсчет суммарной площади (S) всех ренин-позитивных клеток ЮГА в субкортикальной и в околomosговой зонах коркового вещества почек на увеличении  $\times 80$  в каждом из 10 случаев во всех возрастных группах. Далее высчитывали среднюю арифметическую ( $\mu$ ) суммы для субкортикальной и околomosговой зоны из 10 случаев в каждой возрастной группе.

Статистическую обработку полученных данных проводили в программе Statistica 8.0. Все результаты были проверены на соответствие закону о нормальном распределении (критерий Шапиро–Уилка). Для показателей с нормальным распределением был использован критерий Стьюдента, для показателей, не совпадающих с нормальными значениями, был применен критерий Манна–Уитни. Данные представлены в виде среднего арифметического значения  $\pm$  стандартная ошибка среднего ( $M \pm m$ ). Значимыми считали отличия при  $p < 0,05$ . Аутопсийный материал пациентов, страдающих почечными патологиями, заболеваниями сердечно-сосудистой системы, сахарным диабетом и другими эндокринными патологиями, в работе не использовался.

### Результаты исследования и их обсуждение

При проведении макро- и микроскопического исследований в изучаемых образцах почек отсутствовали видимые повреждения и признаки патологических изменений. Почки имели типичное для своего возраста строение [11], границы коркового и мозгового вещества были хорошо различимы, на ранних сроках (2 месяца – 12 месяцев) сохранялись признаки дольчатого строения. В качестве примера на микрофотографиях субкортикальной зоны и околomosговой зоны (рис. 1) представлен один из образцов исследуемого материала с обозначениями ультраструктур.

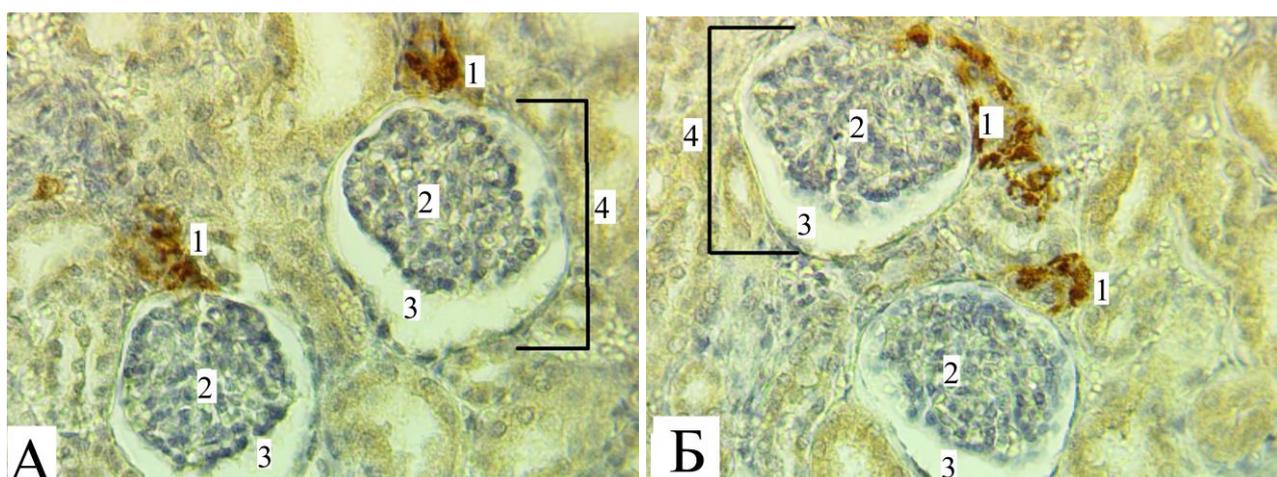


Рис. 1. Микрофотография корковой зоны «А» и околomosговой зоны «Б», увеличение  $\times 80$ ).

Под цифрой (1) обозначены скопления ренин-позитивных клеток ЮГА, под цифрой (2) обозначен клубочек нефрона, под цифрой (3) – мочевое пространство капсулы Боумена–Шумлянскогo, под цифрой (4) обозначено тело нефрона

В течение изученного периода онтогенеза (с 2 до би лет) происходит прогрессивный рост площади, занимаемой клетками юстагломерулярного аппарата, продуцирующими ренин. Ренинпозитивные клетки образуют поля и скопления в стенках приносящих артериол и в меньшей степени – в стенках выносящих артериол клубочков (рис. 1). В возрасте 6 лет суммарная площадь ренинпозитивных клеток становится максимальной (рис. 2), а к 10-летнему возрасту наблюдается относительное снижение этого показателя, что может быть следствием активного роста канальцевого аппарата нефронов и относительного снижения площади ранее сформированных структур. О периодах наиболее интенсивного роста почечной паренхимы, которые приходятся на первые 1,5–2 года жизни и 8–10 лет, свидетельствуют и данные Р.И. Айзмана [12], объясняющие снижение площади эндокринного аппарата относительно канальцевых структур почки.

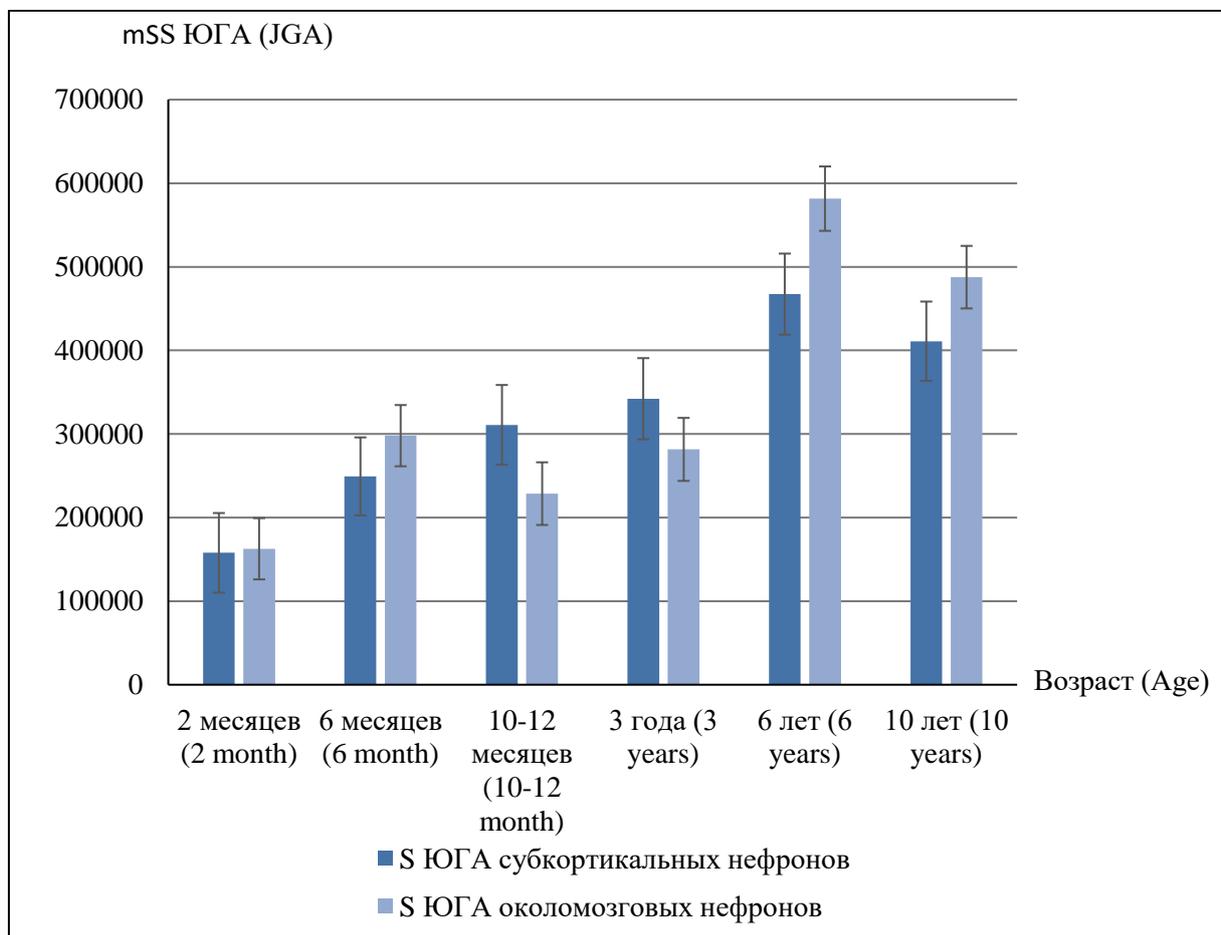


Рис. 2. Средняя сумма площади ренин-позитивных клеток юстагломерулярного аппарата

Однако процесс роста и дифференцировки юстагломерулярного аппарата происходит с различной скоростью и интенсивностью в разных типах нефронов – субкортикальных и околомозговых. Так, суммарная площадь ренинпозитивных клеток в почечных тельцах субкортикальных нефронов начиная с 2-месячного возраста растет прогрессивно линейно до

6-летнего возраста, когда достигает максимальных значений. К возрасту 10 лет происходит ее относительное снижение, однако достоверных различий между показателями в эти возрастные периоды выявлено не было (таблица). Некоторое снижение значений суммарной площади ренинпозитивных клеток в 10-летнем возрасте, по-видимому, связано с замедлением нарастания объема эндокринной ткани в составе стенок приносящих и выносящих артериол при сохраняющемся росте других элементов почечной паренхимы (в частности, канальцев и интерстиция).

Показатели средней суммы площади ренинпозитивных клеток  
юктагломерулярного аппарата

Возрастные группы	S ЮГА субкортикальных нефронов	S ЮГА околomозговых нефронов
2 месяца 2 month	157785 (± 47643,21)	162671 (± 36652,32)
6 месяцев 6 month	249261 (± 46659,12)	297989 (± 36652,54)
10–12 месяцев 10–12 month	310942 (± 42689,32) *	228632 (± 31487,44) *
3 года 3 years	342168 (± 48576,31)	281576 (± 37687,62)
6 лет 6 years	467342 (± 48471,21) *	581576 (± 38543,41) *
10 лет 10 years	411020 (± 47432,13)	487634 ± 37432,63

Примечание\* – различия достоверны для сравнения средней суммы площади ( $\mu\Sigma$ ) субкортикальных и околomозговых нефронов ( $p \leq 0,05$ ) в одном возрастном периоде.

Рост и дифференцировка юктагломерулярного аппарата околomозговых нефронов происходят несколько сложнее. В возрасте 2 месяцев суммарная площадь ренинпозитивных клеток околomозговых нефронов не отличается от данного показателя субкапсулярных нефронов, но быстро возрастает к возрасту 6 месяцев (рис. 2). Затем скорость роста значительно снижается (суммарная площадь ренинпозитивных клеток в возрасте 1 года и 3 лет), а к 6 годам наблюдается резкий скачок данного показателя, когда суммарная площадь ренинпозитивных клеток околomозговых нефронов достоверно превышает показатель, полученный для субкапсулярных нефронов. Данные факты соотносятся с данными исследователей Цю Сяо, Вэй Жунфэй, Чжан Линцян, Хэ Фучу (2015), которые в своей работе

«Роль сигнальных путей в регуляции развитии почек» также говорят о неравномерном развитии различных ультраструктурных элементов паренхимы почек [13].

К 10-летнему возрасту происходят некоторое снижение и стабилизация суммарной площади ренинпозитивных клеток околomозговых и субкортикальных нефронов, но юкстагломерулярный аппарат околomозговых нефронов достигает большей площади, что может свидетельствовать о большей вовлеченности данных нефронов в процесс синтеза и секреции ренина. Неравномерность роста юкстагломерулярных клеток в структурах околomозговых нефронов связана с основными тенденциями развития паренхимы почек у детей – преимущественным увеличением длины и диаметра почечных канальцев, особенно тонкого отдела петли Генле, возрастанием удельного объема канальцев и уменьшением доли клубочков (к 9–10 годам) [11].

**Выводы.** Таким образом, увеличение суммарной площади ренинпозитивных клеток юкстагломерулярного аппарата в субкортикальных и околomозговых нефронах происходит с различной скоростью. В субкортикальном слое данный процесс на протяжении первых 6 лет идет прогрессивно линейно, стабилизируясь к 10 годам, тогда как в околomозговой зоне суммарная площадь, занимаемая ренинпозитивными клетками, с 10–12 месяцев до 3 лет оказывается ниже значений, как полученных для субкортикального слоя того же возраста, так и данного показателя в более раннем возрасте (6 месяцев). Это свидетельствует о значительном росте канальцевых структур околomозгового и мозгового вещества с 1 года до 3 лет и более поздней дифференцировке почечных тел в околomозговой зоне.

Начиная с 6-летнего возраста суммарная площадь ренинпозитивных клеток в околomозговых нефронах становится больше, чем в субкортикальных, что подтверждает выдвинутую нами гипотезу о преимущественно эндокринной функции юкстамедулярных нефронов и их основном участии в осуществлении почечных механизмов регуляции артериального давления.

### Список литературы

1. Бокарев И.Н., Дулин П.А., Овчинников Ю.В., Симоненко В.Б. Артериальная гипертония: современное состояние проблемы // Клиническая медицина. 2017. № 95 (6): С. 581-585. DOI: 10.18821./0023-2149-2017-95-7-581-585.
2. Чазова И.Е. Итоги реализации Федеральной целевой программы по профилактике и лечению артериальной гипертонии в России в 2002–2012 гг. // Вестник РАМН. 2013. № 2. С. 5.

3. Theodore R.F., Broadbent J., Nagin D., Ambler A., Hogan S., Ramrakha S., et al. Childhood to early-midlife systolic blood pressure trajectories: early-life predictors, effect modifiers, and adult cardiovascular outcomes. *Hypertension*. 2015. no. 66. P. 15–1108.
4. Ashraf M., Irshad M., Parry N.A. Pediatric hypertension: an updated review. *Clin Hypertens*. 2020. vol. 26. no. 22 DOI: 10.1186/s40885-020-00156-w.
5. Veronique L. Roger, Alan S. Go, Donald M. Lloyd-Jones, Emelia J. Benjamin, Jarett D. Berry, William B. Borden, Dawn M. Bravata, Shifan Dai. Heart disease and Stroke statistics — 2012 update. A report from the American Heart Association. *Circulation*. 2012. no. 125. P. 2–220.
6. Baracco R., Kamat D. Pediatric Nephrology. *Pediatr Ann*. 2020. vol. 49. no. 6. P.248-249. DOI: 10.3928/19382359-20200520-03.
7. Ледяев М.Я., Степанова О.В., Светлова Л.В., Королева М.М., Жукова Ю.А. Профилактика, диагностика и лечение в практике врача-педиатра // *Лекарственный вестник*. 2015. № 1 (57). С.42-52.
8. Сукало А.В., Ткаченко А.К. Оценка состояния функции почек у новорожденных детей // *Методические рекомендации*. Минск.: Минский государственный медицинский институт. 1999. С. 1-12.
9. Плюшкина А.С., Гумерова А.А., Андреева Д.И., Бурганова Г.Р., Киясов А.П. Мочевая система. Казань: Казан. ун-т. 2018. 40 с.
10. Арав В.И., Слесарева Е.В., Попов В.В., Кучина К.А., Уренева Р.В. История исследования юкстагломерулярного аппарата // *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2014. № 2. С. 117-124.
11. Шумилов П.В., Петросян Э.К., Чугунова О.Л. Детская нефрология. М.: МЕДпресс-информ. 2021. С. 16-100.
12. Айзман Р.И. Формирование функции почек и водно-солевого обмена в онтогенезе // *Физиология развития ребёнка: глава 11 / под ред. М.М. Безруких, Д.А. Фарбер*. М.: Изд-во РАО. 2002. С. 186-200.
13. Qiu Xiao, Wei Rongfei, Zhang Lingqiang, He Fuchu. The roles of signaling pathways in regulating kidney development. *Yi Chuan*. Beijing. 2015. vol. 37. no. 1. P. 1-7. DOI: 10.16288/j.ycz.2015.01.001.