

МОРФОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ ОЗОНОВАНОГО ФІЗІОЛОГІЧНОГО РОЗЧИНУ ЗА УМОВ ЛІКУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПІЕЛОНЕФРИТУ

© **О. С. Федорук, В. В. Візнюк**

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

РЕЗЮМЕ. Проаналізовані результати морфологічних досліджень структурно-функціональних компонентів нирок при гострому піелонефриті і терапевтичного ефекту озонотерапії в експерименті на щурах. Визначені зміни в тканинах нирок та надниркових залоз, які найчастіше ушкоджуються при проведенні сеансів дистанційної ударно-хвильової літотрипсії. Доведена доцільність використання озонотерапії для лікування інфекційно-запальних захворювань нирок, і найбільш виправдане раннє включення його в післяопераційний лікувальний комплекс хворих на сечкам'яну хворобу після проведення дистанційної ударно-хвильової літотрипсії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: морфофункціональні зміни нирок, озонотерапія, сечокам'яна хвороба.

Вступ. Останнім часом у лікуванні хворих на сечокам'яну хворобу (СКХ) досягнуто значного прогресу, це дозволило руйнувати і видаляти з тіла пацієнта конкременти, не застосовуючи відкритого операційного втручання [1]. Відкриття та впровадження в клінічну практику дистанційної ударно-хвильової літотрипсії (ДУХЛ) дозволило підвищити якість і ефективність лікування різних клінічних форм СКХ [1, 2].

Після проведення ДУХЛ спостерігається зниження функціонального стану нирки, але ці зміни мають зворотний характер [2]. Це обумовлено дією ударних хвиль на нирку. За даними авторів [2, 3, 7], при ультразвуковому дослідженні нирок після ДУХЛ відзначалося збільшення розмірів нирок на стороні дроблення. При морфологічному дослідженні тканини нирки пацюків відзначалося повнокров'я судин мікроциркуляторного русла як у кірковій, так і в мозковій речовинах [5, 6]. Ці зміни (розриви і тромбоз інтраренальних судин, утворення гематом, ушкодження клубочків) призводять до розвитку набряку, що і викликає погіршення внутрішньониркової мікроциркуляції [6, 8].

На даний час накопичений достатній теоретичний і практичний матеріал, що дозволяє успішно застосовувати озонотерапію у різних галузях медицини [2, 4, 8]. Будучи сильним окиснювачем, озон здатний швидко насичувати тканини киснем, у результаті чого знижується ацидоз, відбувається зниження високого рівня pCO_2 , збільшення рівня PO_2 в 2 рази і, як результат, прискорювати процеси регенерації [4, 5, 7], що і стало предметом даного дослідження.

Мета дослідження. Вивчити морфофункціональні та електронно-мікроскопічні зміни тканини нирок за умов наявності піелонефриту та застосування озонотерапії в експерименті.

Матеріал і методи дослідження. Прооперовано 33 статевозрілих щури лінії Wistar, з яких 5 оперовані для створення оптимальної експери-

ментальної моделі гострого піелонефриту, відпрацювання відповідного анестезіологічного забезпечення та техніки оперативного втручання. Для моделювання запального процесу у вигляді піелонефриту використовували методичні підходи – засоби, розроблені С. М. Мартиною, Т. В. Горбач, Є. Є. Перським, Д. С. Саркісовим, П. І. Ремезовим (1960).

Спосіб експериментального моделювання гострого піелонефриту у тварин полягав у проведенні оперативного втручання, що імітує обструкцію верхніх сечових шляхів з наступним їхнім інфікуванням збудниками гострого піелонефриту (*E. Coli* – 2,5-108 КУО/мл). Методика операції полягала в наступному. Під кетаміновим наркозом тваринам виконували серединну лапаротомію, після чого пересікали обидва сечоводи та імплантували їх на бічні поверхні передньої черевної стінки з метою контролю за виділенням сечі. У просвіт одного із сечоводів заводили тонкий катетер фірми Braun для створення обструкції нирки з попереднім введенням у миску по катетеру суспензії мікобактерій *E. Coli* в концентрації 1,5–2,5 КУО/мл.

Відкриту біопсію нирки здійснювали на 2–3 добу після операції, а нефректомію – на 9–10 добу із серединного доступу. У контрольній групі щурів нефректомію виконували для порівняльного морфологічного дослідження інтактної нирки. Використання моделі гострого піелонефриту реалізовано для створення типових клінічних умов, що мають прикладне практичне значення при виконанні дистанційної літотрипсії.

Залежно від ступеня тяжкості перебігу гострого піелонефриту застосування озонотерапії і термінів виведення з експерименту тварини були поділені на 5 груп:

1 – тварини для відтворення гострого піелонефриту (вивчення біохімічних показників, відкрита біопсія нирки на 3–4 добу після операції для морфологічного дослідження);

2 – тварини для відтворення гострого пієлонефриту (вивчення біохімічних показників, нефректомія на 9–10 день після операції);

3 – тварини для відтворення гострого пієлонефриту в комплексі з озонотерапією (вивчення біохімічних показників, відкрита біопсія нирки на 3–4 добу після операції для морфологічного дослідження);

4 – тварини для відтворення гострого пієлонефриту в комплексі з озонотерапією (вивчення біохімічних показників, нефректомія на 9–10 день після операції);

5 – контрольна група – здорові інтактні тварини, у яких гострий пієлонефрит не відтворювали. Усього виконано 61 операцію.

Методика озонного впливу на експериментальних тварин була такою. Як носія озону обраний ізотонічний розчин хлориду натрію. Концентрація озону в розчині для внутрішньовенного введення не перевищувала 500 мкг/л у 100,0 мл розчину. Кількість інфузій озонованого розчину на одну тварину складала 5 сеансів.

Запропонована експериментальна модель з відтворенням гострого пієлонефриту у лабораторних тварин дозволила простежити можливі морфофункціональні й ультраструктурні зміни в тканині нирки, подібні тим, що відбуваються у хворих на СКХ на тлі розвитку гострого пієлонефриту з формуванням синдромів ендогенної інтоксикації та ниркової дисфункції.

У якості об'єктів органів-мішеней та матеріалу для патоморфологічного дослідження структурно-функціональних компонентів при гострому пієлонефриті і терапевтичного ефекту озонотерапії в експерименті визначали зміни в тканинах нирок та надниркових залоз, які найчастіше ушкоджуються при проведенні сеансів дистанційної ударно-хвильової літотрипсії, а також нирки контрольної групи лабораторних тварин для визначення вихідного стану паренхіми, що вилучали після нефректомії у тварин на 3 і 10 добу після модельного експерименту. Принциповою різницею такого підходу до моделювання є формування гострого пієлонефриту на тлі сечокам'яної хвороби.

Для вивчення морфофункціональних і ультраструктурних змін при електронно-мікроскопічному дослідженні шматочки тканини нирки поміщали на воскову пластину в краплю охолодженого 2–4 % розчину глютарового альдегіду і лезом розрізали на кубики обсягом 1 мм³. Подрібнену тканину переносили в охолоджений фіксатор на 2–3 години для попередньої фіксації і поміщали в холодильник при температурі 40 °С.

Після попередньої фіксації і промивання в буферному розчині, тканину поміщали в 1 % забуферений розчин чотириокису осмію на 2–3 год для кінцевої фіксації. Після закінчення фіксації тканину

зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації та ацетоні. Просякання і заливання проводили в суміші епоксидних смол (аралдит-епон) і укладали в блоки за загальноприйнятими методиками. Полімеризацію блоків здійснювали в термостаті при температурі 60 °С протягом двох діб.

Ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамікротомі УМТП-6 "ЛОМО", монтували на електролітичні сіточки і після контрастування цитратом свинцю досліджували під електронним мікроскопом ЭМБ-100 БР при напрузі 75 кВ. Збільшення підбиралося адекватне цілям дослідження, коливалося в межах 25000–60000х і визначалося за струмом проміжної лінзи на основі графіків, що додаються до приладу.

При статистичній обробці патоморфологічного матеріалу оцінювали наступні ознаки: площу, яку займали механічні ушкодження паренхіми, загальну площу осередків крововиливу і некрозу, загальну площу зон запальної інфільтрації, осередків проліферації епітелію каналців і ендотелію клубочкових капілярів, а також площу ділянок, зайнятих новоутвореною і зрілою сполучною тканиною в кірковому і мозковому шарах паренхіми нирки. Загальну площу кожного гістологічного зрізу, а також ділянки зрізів із зазначеними вище змінами вимірювали в пікселях. Потім результати вимірів виражали у відсотках до загальної площі зрізу. Отримані дані обробляли з застосуванням методів варіаційної статистики. При цьому обчислювали критерій Стьюдента для різних груп лабораторних тварин.

Результати й обговорення. Проведені дослідження дозволяють вирішити поставлені в дослідженні задачі з позицій метаболічних ефектів озонотерапії. Сформовані дистрофічні і некробіотичні зміни структури нирок до моменту озонотерапії, які є незворотними, тому ефект озонотерапії розцінюється як позитивний, що запобігає подальшому розвитку гострого пієлонефриту.

Морфологічні зміни тканин нирки після розвитку гострого експериментального пієлонефриту і лікування його парентеральним введенням озонованих розчинів (концентрація озону в розчині 500 мкг/л) у післяопераційному періоді значно відрізняються від морфологічної картини гострого пієлонефриту контрольної групи тварин, оскільки ефект від проведеної озонотерапії дозволяє швидко ліквідувати гіпоксію тканин нирки і, як наслідок, активізувати метаболізм в нирці, що сприятливо впливає на перебіг запального процесу в нирці.

На 3–4 добу після розвитку гострого експериментального пієлонефриту і лікування його парентеральним введенням озонованих розчинів гістологічно відзначається майже повне згасання запального процесу, що виявляється в зникненні

запального інфільтрату і інтерстиціального набряку в мозковому шарі нирки (рис. 1, А, Б).

На 3–7 добу в стромі нирки помітні лише дрібні осередкові скупчення з поодиноких нейтрофілів і лімфоцитів, а також незначні дрібноосередкові діapedезні крововиливи. В епітелії дистальних канальців спостерігаються нерізно виражені зворотні дистрофічні зміни у вигляді зернистої дистрофії (рис. 2, В–Е).

У кірковому шарі нирки з боку клубочків реакція істотно зменшилася – зберігають лише помірний набряк ниркової тканини і повнокрів'я клубочкових капілярів.

На 9–10 добу після розвитку гострого пієло-нефриту і лікування його озонованими розчинами в стромі мозкового шару нирки виявляються лише одиничні дрібні осередки фіброзу. Дистрофічні і некротичні зміни відсутні (рис. 3, Ж, З).

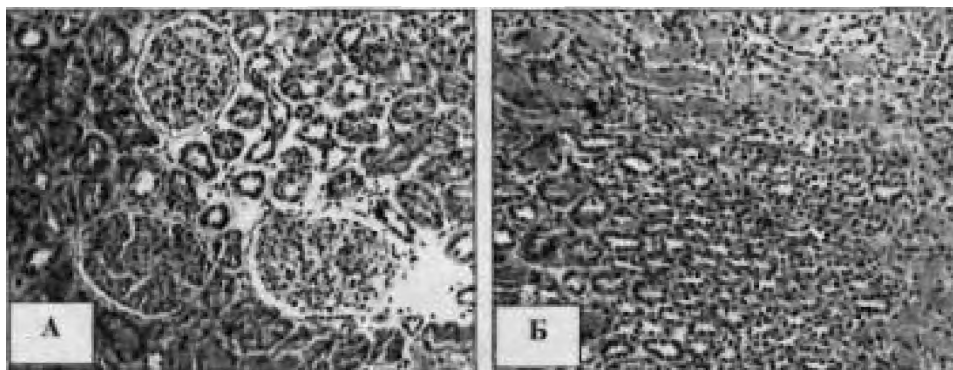


Рис. 1. Біопсія тканини нирки щура в різний термін після проведення експерименту в поєднанні з озонотерапією: А (1–3 доба) – розширені, повнокровні капілярні петлі клубочків. Гіаліново-крапельна дистрофія епітелію проксимальних канальців. Пінисті білкові маси і спушені клітини нефротелію в їхньому просвіті; Б (1–3 доба) – гідропічна дистрофія епітелію дистальних канальців. Поодинокі без'ядерні нефроцити. Дрібноосередкові інтерстиціальні крововиливи. Фарбування гематоксиліном і еозином. Збільшення x250; В, Г, Д x400.

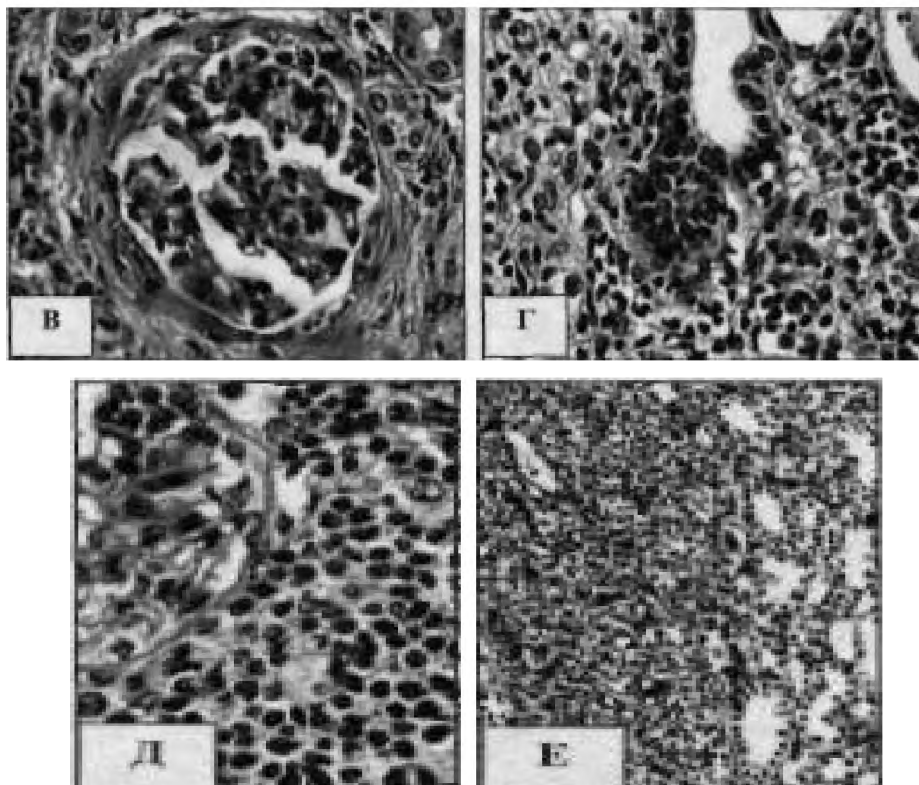


Рис. 2. Біопсія тканини нирки щура в різні терміни після експерименту в поєднанні з озонотерапією: перигломерулярний склероз Г (3–7 доба) – осередки проліферації нефротелію дистальних канальців; Д (3–7 доба) – великі осередки інфільтрації з лімфоцитів, плазмоцитів, гістіоцитів, нейтрофілів у кірковому шарі паренхіми. Дрібні крововиливи в інтерстиції; Е (3–7 доба) – осередки крововиливів в інтерстиції дистальних канальців. Масивні дифузні інфільтрати з лімфоцитів, плазмоцитів, нейтрофілів. Фарбування гематоксиліном і еозином. Збільшення x400.

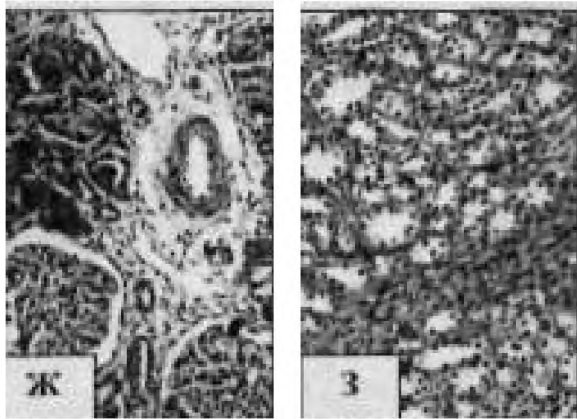


Рис. 3. Біопсія тканини нирки щура в різний термін після експерименту в поєднанні з озонотерапією: Ж (7–10 доба) – перигломерулярний і периваскулярний склероз у кірковому шарі паренхіми; З (7–10 доба) – масивні нашарування сполучної тканини в інтерстиції мозкового шару. Атрофія нефротелію дистальних канальців. Звуження їхнього просвіту в зоні склерозу. Фарбування препаратів А-І і З - гематоксилином і еозином, Ж – пікрофуксином за Ван-Гізон. Збільшення x250.

Слід зазначити, що ультраструктурне дослідження матеріалу даної групи тварин показало зменшення дистрофічних змін в тканинах нирок, появу в цитоплазмі нефроцитів, а також великої кількості великих мітохондрій зі збереженими великими зірчастими електроннощільними гранулами глікогену. Визначалися сформовані профілі шороховатої ендоплазматичної мережі і збережені канальці з вільним просвітом і вузькими міжклітинними просторами. На апікальній поверхні клітин помітні ворсинки щіткової облямівки. У осередках інтерстиціального фіброзу в просторі між нефроцитами прослідковуються молоді фібробласти з витягнутими темними електроннощільними ядрами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гланц С. И. Медико-биологическая статистика / С. И. Гланц. – М. : Практика, 1999. – 459 с.
2. Деревянченко В. И. Острый пиелонефрит, вторичная артериальная гипертензия как осложнение дистанционной литотрипсии / В. И. Деревянченко, И. В. Воронин // Материалы Пленума правления Рос. общ-ва урологов, Сочи, 28–30 апр. – М., 2003. – 123 с.
3. Борисов В. В. Мочекаменная болезнь. Терапия больших камнями почек и мочеточников / В. В. Борисов, Н. К. Дзеранов. – М., – 2011. – 88 с.
4. Зайцев В. Я. Определение дозы озона при системной озонотерапии / В. Я. Зайцев, В. И. Гибалов // Озон в биологии и медицине : материалы 2-ой Украинско-Русской научно-практической конференции. – Одесса, 2004. – С. 20–21.

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що озонотерапія ефективно коригує викликані гострим запальним процесом зміни ниркової тканини, що виявляється відсутністю дистрофічних і некротичних структур паренхіми нирки і канальцевого апарату. На підставі вищевказаних даних можна зробити висновок про доцільність використання озонотерапії для лікування інфекційно-запальних захворювань нирок, і найбільш виправдане раннє включення його в післяопераційний лікувальний комплекс таких хворих.

Проведений експеримент поглибив уяву про біомеханіку і патофізіологічні шляхи розвитку та перебігу травматизації нирки, що ураховано при удосконаленні існуючих та розробці нових методів малоінвазивних хірургічних втручань, у прогнозуванні перебігу і веденні хворих на сечокам'яну хворобу після проведення запропонованого лікування з використанням сеансів дистанційної ударнохвильової літотрипсії в комплексі із озонотерапією.

Висновки. 1. Електронно-мікроскопічне дослідження динаміки змін ультраструктурних клітин нирок при піелонефриті в експерименті показало, що в клітинах розвиваються ультраструктурні зміни органел з наявністю елементів дистрофічних і дрібновогнищевих деструктивних змін.

2. Для прискорення зворотності виявлених змін в тканині нирок необхідно проводити озонотерапію.

Перспективи подальших досліджень. Подальше дослідження ультраструктурної перебудови тканини нирок за умов піелонефриту та озонотерапії слугуватиме морфологічною основою для вибору оптимальних методів його запобігання та лікування.

5. Моделирование острого пиелонефрита у животных различного вида / А. В. Лукьянов, В. Т. Долгих, Э. Г. Потиевский [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – № 4. – С. 42–47.
6. Способ моделирования острого гнойного пиелонефрита / Л. А. Ситко, Б. А. Рейс, В. М. Никонов, А. В. Лукьянов // Бюл. Федер. ин-та промышл. собственности. – 2002. – № 24., (II ч.). – С. 369.
7. David A. Tolley Urolithiasis : update on stone management / A. David // Europ. Urology. – 2005. – Vol. 3, № 1. – P. 1–2.
8. Hochreiter W. W. Extracorporeal shock wave lithotripsy for distal ureteral calculi: what a powerful machine can achieve / W. W. Hochreiter, H. Danuser, M. Perrig, U. E. Struder // Urology. – 2003. – Vol. 169. – P. 878–880.

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему

MORPHOLOGICAL STUDY USING OZONATED PHYSIOLOGICAL SOLUTION UNDER EXPERIMENTAL TREATMENT OF PYELONEPHRITIS

©O. S. Fedoruk, V. V. Viznyuk

Bukovyna State Medical University

SUMMARY. The results of morphological studies of structural and functional components of the kidney with acute pyelonephritis, and the therapeutic effect of ozone therapy in experiments on rats was analyzed. The changes in the tissues of the kidney and in the adrenal glands, which are most often damaged during the sessions distance shock wave lithotripsy was set. The expediency of the use of ozone therapy in the treatment of infectious and inflammatory diseases of the kidneys, and the most justified his inclusion in the early post-operative patients on the medical complex urolithiasis after the distance shock wave lithotripsy was proved.

KEY WORDS: morphological and functional changes in the kidneys, ozone therapy, urolithiasis.

Отримано 04.04.2014