

ЕЛЕКТРОННО-МІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ ЄДИНОЇ НИРКИ, ЩО ЗАЛИШИЛАСЯ ПІСЛЯ НЕФРЕКТОМІЇ КОНТРАТЕРАЛЬНОЇ, У СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

(м. Вінниця)

pivtorakv@gmail.com

Дана робота є фрагментом НДР кафедри оперативної хірургії та топографічної анатомії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова «Структурні зміни в органах травної та сечостатевої систем після проведення оперативних втручань», № державної реєстрації: 0114U003688.

Вступ. Питання компенсації структури та функції при втраті одного з парних органів представляють інтерес для клінічної практики, у зв'язку з чим зростає увага дослідників до експериментального вивчення органів, які залишилися після видалення контрлатеральних [5].

За даними клініцистів [1] найбільш загрозливу групу з розвитку хронічної ниркової недостатності представляють пацієнти з єдиною ниркою, а серед них – діти, яким проведена нефректомія з приводу аномалій сечової системи та вторинно зморщеної нирки.

Для дітей, які перенесли нефректомію, характерні мікросоматичний соматотип, дисгармонійний фізичний розвиток, що свідчить про недосконалість механізмів специфічного захисту дитини, які не забезпечують функціональну адаптацію організму при змінах зовнішнього середовища [4]. У дітей виявляються хронічні захворювання нирки, обструктивна уропатія та інші розлади, що в прогностичному плані є вкрай несприятливими та вимагають активної нефропротективної терапії даної категорії пацієнтів [2].

Вивчення стану парціальних функцій єдиної нирки у дитини спонукає більшість авторів до висновку про поступове переваження єдиної «здорової» нирки, виснаження її компенсаторних можливостей [6, 8]. Вирішальна роль у формуванні компенсаторно-приспосувальної реакції нирки після односторонньої нефректомії належить рівню фізіологічної регенерації органу [7]. Функціональні можливості нирок у дітей до пубертатного віку значно відрізняються як від статево розвинутих юнаків та дівчат, так і від дорослих [3]. Змінюється співвідношення між кірковою та мозковою речовиною, збільшується маса та об'єм нирки.

Разом з тим, на сьогоднішній день остаточно не сформульовані загальні закономірності компенсації функції єдиної нирки у різні періоди статевого розвитку, недостатньо розкриті механізми, що забезпечують стабілізацію компенсаторно-приспосувальних процесів у статево незрілих тварин в експерименті.

Морфологічні зміни єдиної нирки на ультраструктурному рівні, після видалення контрлатеральної, у статево незрілих тварин також вивчені недостатньо.

Мета дослідження – дати характеристику ультраструктурних змін єдиної нирки, після видалення контрлатеральної, у статево незрілих щурів в експерименті.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальне дослідження виконано 63 статево незрілих щурів-самців масою 90-148 грамів на базі віварію Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова. Утримання та маніпуляції з тваринами проводили у відповідності до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), також керувалися рекомендаціями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985) і положеннями «Правил доклінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP)».

Тварин розподілили на контрольну та дослідну групи. В контрольній групі п'яти статево незрілим щурам віком один-півтора місяці (контроль 1) ніяких втручань не проводили; двадцяти трьом статево незрілим тваринам віком один-півтора місяці (контроль 2) під кетаміновим знеболенням проводили розтин черевної порожнини, після чого пошарово ушивали черевну стінку. Тварин виводили з дослідження по три тварини на кожний строк через 7, 14, 21, 30, 90, 180 діб шляхом внутрішньо-плеврального введення тіопенталу-натрію (50 мг/кг).

Всім тваринам дослідної групи (тридцять п'ять статево незрілих щурів віком один-півтора місяці) виконували оперативне втручання – нефректомію лівої нирки. Щурам під загальним внутрішньо-м'язовим знеболенням (аміназин 10 мг/кг та кетамін 20 мг/кг) проводили лівосторонню нефректомію шляхом перетину ниркової ніжки між двома лігатурами з подальшим видаленням органа. Операцію проводили наступним чином. Тварину вкладали та фіксували м'якими лямками за кінцівки в положенні на спині до операційного столу. Параректальним розрізом довжиною до 3-5 см пошарово розкривали черевну порожнину. Тонку кишку за допомогою марлевої серветки відсували вниз і медіально. Ліву нирку та її судини виділяли з навколишніх тканин. Нирку вивихували у рану та виділяли з жирової клітковини верхню третину сечоводу. На сечовід накладали затискач, під яким перев'язували його кетгутувою лігатурою та потім перетинали під затискачем. Тупим шляхом виділяли ниркову артерію і вену та накладали два затискачі, між якими їх перетинали. Нирку видаляли, а куску кровоносних судин

перев'язували кетгуттовими лігатурами. Рану пошарово зашивали наглухо.

Тварин виводили з досліду шляхом внутрішньоплеврального введення тіопенталу-натрію 50 мг/кг через 7, 14, 21, 30, 90, 180 діб після нефректомії.

Макроскопічна оцінка та описання нирок тварин проводилося після їх вилучення. Для електронно-мікроскопічного дослідження шматочки нирки фіксували в 2,5%-ному розчині глютаральдегіду на 0,1 г фосфатному буфері та дофіксували в 1% -ому розчині чотириокису осмію на фосфатному буфері, 1% розчині таніновими кислотами, збезводнювали в батареї спиртів зростаючої концентрації й ацетоні, проводили в сумішах ацетону й епону та заливали в суміш епону й аралдіту. Морфологічні структури контрастували в процесі зневоднення матеріалу насиченим розчином уранілацетатом, а на зрізах – цитратом свинцю. Зрізи товщиною 40-60 нм, отримані на ультрамікроскопі УМТП-7, вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125 К.

Статистична обробка отриманих результатів проведена з використанням параметричних і непараметричних методів оцінки отриманих результатів.

Результати досліджень та їх обговорення.

Електронно-мікроскопічні дослідження ниркових тілець нирок статевонезрілих тварин в нормі показали, що цитоплазма трабекул та тіл подоцитів має невисоку електронну щільність, в ній небагато органел. Ендоплазматична сітка представлена непротяжними канальцями, невеликі диктіосоми комплексу Гольджі складаються з окремих цистерн, вакуолей і міхурців. Мітохондрій небагато і вони середніх розмірів, у них мало крист. Цитоплазма цитоподій більш щільна. В ній видно тонкі мікрофібрили. Внутрішній листок капсули та стінка кровоносних капілярів клубочка мають спільну тришарову базальну мембрану і створюють фільтраційний бар'єр (рис. 1).

Проведені дослідження ультраструктури епітеліоцитів проксимального відділу нефронів показали, що для них характерна наявність на апікальній поверхні великої кількості щільно розташованих мікроворсинок, які відділені одна від одної вузькими щілинами. В базальних частинах клітин плазмолема утворює вузькі складки, які проникають в цитоплазму. Між ними розташуються численні мітохондрії, які мають округло-овальну або подовгасту форму і розташовуються переважно паралельно одна до одної між складками мембран. Гранулярна ендоплазматична сітка в таких епітеліоцитах представлена невеликою кількістю плоских або помірно розширених цистерн. Разом з тим у цитоплазмі виявляються багато чисельні вільні рибосоми. Ядра мають округлу форму, чіткі мембрани каріолеми, що обмежують вузький перинуклеарний простір. В каріоплазмі переважає еухроматин, наявні крупні ядерця.

Електронно-мікроскопічні дослідження кіркової речовини нирок статевонезрілих тварин на 7 та 14 доби досліду після нефректомії встановили реактивні зміни у всіх компонентах нефрона. Характерним для судинних клубочків ниркових тілець є розширені, кровонаповнені просвіти гемокапілярів. Цитоплазматичні ділянки ендотеліоцитів витончені, в них багато фенестр. У потовщених ділянках цитоплазми, біля подовгастої форми ядер наявні невеликі потовщені



Рис. 1. Ультраструктурна організація компонентів судинного клубочка нирки статевонезрілої інтактної тварини. Просвіт гемокапіляра з еритроцитом (1), цитотрабекула (2), цитоподії (3), базальна мембрана (4). x 12 000.

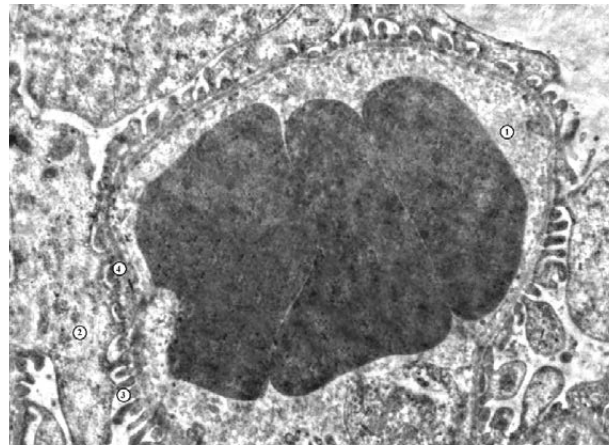


Рис. 2. Ультраструктурний стан компонентів судинного клубочка нирки статевонезрілої тварини на 7 добу після нефректомії. Просвіт гемокапіляра з еритроцитом (1), цитотрабекула (2), цитоподії (3), базальна мембрана (4). x 10 000.

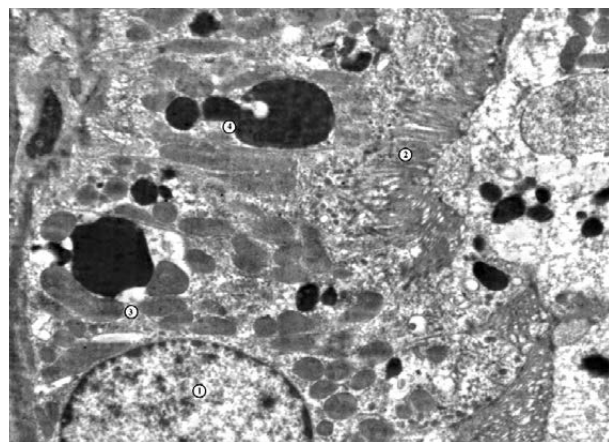


Рис. 3. Субмікроскопічні зміни епітеліоцита проксимального відділу нефрона нирки молодшої тварини на 7 добу після нефректомії. Кругле ядро (1), мікроворсинки на апікальній поверхні (2), мітохондрії (3), білкові включення (4). x 17 000.

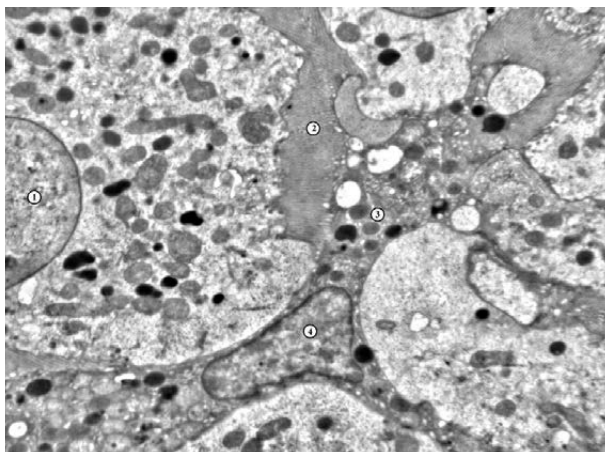


Рис. 4. Субмікроскопічні зміни епітеліоцитів проксимального відділу нефрона нирки молодого тварини на 21 добу після нефректомії. Кругле ядро (1), мікрроворсинки на апікальній поверхні (2), “темна” з осміофільною цитоплазмою клітина (3), білкові включення (4). x 10 000.

каналіці гранулярної ендоплазматичної сітки, гіпертрофовані мітохондрії, що мають просвітлений матрикс і частково редуковані кристи. У каріоплазмі ядер переважає еухроматин, каріолема нерівна має інвагінації, перинуклеарні простори вогнищево потовщені.

Базальна мембрана кровоносних капілярів відносно рівномірна, місцями потовщена, контури її нечіткі, тришаровість її будови збережена.

Субмікроскопічно у подоцитах спостерігається неоднорідної електронної щільності цитоплазма в тілах та потовщених цитотрабекулах. Цитоподії, що щільно контактують з базальною мембраною, багато. Вони різних розмірів, та товщини. Наявні короткі, потовщені, інші видовжені і витончені. Просвіти між цитоподіями добре виражені, чіткі (рис. 2).

Електронномікроскопічні дослідження нефронів нирок у ці терміни досліді після нефректомії встановили, що у епітеліоцитах проксимальних і дистальних каналіців наявні округлі ядра, що мають чіткі контури каріолеми і добре виражені ядерні пори. В окремих ядрах є крупні ядерця.

У цитоплазмі епітеліоцитів, частіше у базальних ділянках, наявні гіпертрофовані мітохондрії кристи яких частково редуковані. Базальна мембрана чітка, складки плазмолемі добре виразні. В епітеліоцитах проксимальних каналіців виявляються білкові включення, вони осміофільні та різні за розмірами. На апікальній поверхні таких клітин мікрроворсинки щільно розташовані, подовгасті, проте на окремих ділянках відмічається їх фрагментація та руйнування (рис. 3).

У базальних частинах цитоплазми епітеліоцитів дистальних звивистих каналіців мембранні складки протяжні та добре контуровані. Мітохондрій багато, вони мають подовгасту або округлу форму, помірно осміофільний матрикс, частково пошкоджені кристи. Базальна мембрана помірної товщини, відмежовує кровоносні капіляри, що мають розширені просвіти. Апікальні ділянки цитоплазми епітеліоцитів електронноосвітлі, набряклі, в них мало органел.

На 21 добу після експериментальної нефректомії гістологічно встановлено значні зміни судин і

структурних компонентів нефронів у нирках, що залишились після нефректомії. Наявний набряк стромы, вогнищева інфільтрація. У кірковій речовині крім гіпертрофованих зростає число атрофованих, зменшених за розмірами ниркових тілець. Просвіти капсул збільшені та нерівномірні.

Електронно-мікроскопічні дослідження кіркової речовини нирок статевонезрілих тварин на 21 та 30 доби досліді після нефректомії встановили наявність компенсаторних та початкові ознаки деструктивних змін компонентів нефрона.

У судинних клубочках ниркових тілець наявні як розширені так і з вузькими просвітами гемокapіляри. У вузьких просвітах еритроцити розташовані щільніше. Внутрішній вміст капілярів – плазма крові має підвищену осміофільність. Цитоплазматичні ділянки ендотеліоцитів вузькі, в них місцями порушується фенестрація. У частини ендотеліальних клітин ядра компактні з грудками гетерохроматину, перинуклеарні простори місцями потовщені. У цитоплазмі мало органел, вони деструктивно змінені. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки фрагментовані, потовщені, невеликі мітохондрії, мають просвітлений матрикс і мало крист.

Базальна мембрана кровоносних капілярів переважно неширока, рівномірна, місцями потовщена. У таких ділянках контури її нечіткі та порушена тришаровість її будови.

Ультраструктура подоцитів на 60-180 добу експерименту подібна попереднім термінам досліді. Від їх тіл відходять широкі цитотрабекули, які закінчуються чисельними. цитоподіями, що щільно контактують з базальною мембраною. Відмічається гетерогенність таких структур – мають різні розміри та форму. У статевонезрілих тварин у ниркових тільцях більше потовщених коротких, а у статевозрілих – тонких, подовгастих цитоподій, між якими краще виражені проміжки.

Електронномікроскопічні дослідження проксимальних звивистих каналіців нефронів кіркової речовини нирок молодих тварин встановили, що в складі стінки наявні “темні” з осміофільною цитоплазмою епітеліоцити. У такій клітині спостерігається пікнотичне, неправильної форми ядро. Цитоплазма має невелику площу, в ній погано контуруються органели, порушена базальна посмугованість і мікрроворсинки на апікальній поверхні.

Більшість епітеліоцитів включають круглі ядра з чіткими мембранами каріолеми. В цитоплазмі помірної електронної щільності наявні гіпертрофовані і середні за розмірами мітохондрії, білкові включення, вони осміофільні, округло-овальної форми. Відмічаються складки плазматичної мембрани у базальній частині епітеліоцитів, а на апікальній довгі мікрроворсинки (рис. 4).

У дистальних відділах звивистих каналіців нефронів нирок статевонезрілих тварин субмікроскопічно спостерігаються епітеліоцити з круглими ядрами та еухроматином у каріоплазмі. У базальних частинах цитоплазми клітин мембранні складки непротяжні, частково пошкоджені. Мітохондрії втрачають упорядковане розташування, їх матрикс стає осміофільним, у ньому погано виявляються кристи. Апікальні ділянки набряклі, гіалоплазма в них електронноосвітла, має мало органел.

Висновки. Ультраструктура кіркової речовини нирок статевонезрілих тварин після проведеної нефректомії змінюється вже у ранні терміни досліджу, коли відбуваються значні реактивні зміни у всіх компонентах нефрона. У кірковій речовині крім гіпертрофованих зростає число атрофованих, зменшених за розмірами ниркових тілець. Просвіти капсул збільшені

та нерівномірні. У пізні терміни досліджу після нефректомії встановили наявність як компенсаторних, так і деструктивних змін компонентів нефрона.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується дослідження клітинного циклу в клітинах єдиної нирки, що залишилася після нефректомії.

Література

1. Иванова И. Е. Региональные особенности хронической болезни почек у детей Чувашии / И. Е. Иванова, В. А. Родионов, А. А. Трефилов, И. Н. Лаврентьева // Вестник Чувашского университета – 2010. – №3. – С. 109-114.
2. Игнатова М. С. Хронические болезни почек в детском возрасте / М. С. Игнатова, М. В. Лебеденкова, В. В. Длин, О. Ю. Турпитко // Нефрология и диализ. – 2009. – № 11 (4). – С. 315-320.
3. Квятковский Е. А. Ультрасонография и доплерография в диагностике заболеваний почек / Е. А. Квятковский, Т. А. Квятковская – Днепропетровск : Нова идеология. – 2005. – 318 с.
4. Красных Л. В. Исследование физического развития детей с единственной почкой / Л. В. Красных // Вестник новых медицинских технологий. – 2008. – № 4. – С. 77–79.
5. Babić N. Angiotensin converting enzyme activity in compensatory renal hypertrophy. / N. Babić, J. Huskić, E. Nakas-Ićindić // Bosn. J. Basic. Med. Sci. – 2007. – Vol. 7, № 1. – P. 79-83.
6. Cozzi D. A. Nephron-sparing surgery in children with primary renal tumor: indications and results. / D. A. Cozzi, A. Zani // Semin. Pediatr. Surg. – 2006. – Vol. 15, № 1. – P. 3-9.
7. Su M. Y. MRI evaluation of the adaptive response of the contralateral kidney following nephrectomy in patients with renal cell carcinoma / M. Y. Su, K. H. Huang, C. C. Chang [et al.] // J. Magn. Reson. Imaging. – 2015. – Vol. 41, №3. – P. 822-828.
8. Timsit M. O. Kidney function following nephrectomy: similitude and discrepancies between kidney cancer and living donation / M. O. Timsit, K. N. Nguyen, Y. Rouach [et al.] // Urol. Oncol. – 2012. – Vol. 30, №4. – P. 482-486.

УДК 612.46:616.61-089.878:611

ЕЛЕКТРОННО-МІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ ЄДИНОЇ НИРКИ, ЩО ЗАЛИШИЛАСЯ ПІСЛЯ НЕФРЕКТОМІЇ КОНТРАЛАТЕРАЛЬНОЇ, У СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ

Пивторак В. І., Монастирський В. М.

Резюме. Дана характеристика ультраструктурних змін єдиної нирки, після видалення контрлатеральної, у статевонезрілих щурів в експерименті. У ранні терміни досліджу, відбуваються значні реактивні зміни у всіх компонентах нефрона. У кірковій речовині крім гіпертрофованих зростає число атрофованих, зменшених за розмірами ниркових тілець. Просвіти капсул збільшені та нерівномірні. У пізні терміни досліджу після нефректомії встановили наявність як компенсаторних, так і деструктивних змін компонентів нефрона.

Ключові слова: єдина нирка, нефректомія, ультраструктура, статевонезрілі щурі.

УДК 612.46:616.61-089.878:611

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЕДИНСТВЕННОЙ ПОЧКИ, ОСТАВШЕЙСЯ ПОСЛЕ НЕФРЕКТОМИИ КОНТРАЛАТЕРАЛЬНОЙ, У НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС

Пивторак В. И., Монастырский В. Н.

Резюме. Представлена характеристика ультраструктурных изменений единственной почки, после удаления контрлатеральной, у половозрелых крыс в эксперименте. В ранние сроки опыта, происходят значительные реактивные изменения во всех компонентах нефрона. В корковом веществе кроме гипертрофированных растет число атрофированных, уменьшенных по размерам почечных телец. Просветы капсул увеличены и неравномерные. В поздние сроки опыта после нефректомии установили наличие как компенсаторных, так и деструктивных изменений компонентов нефрона.

Ключевые слова: единственная почка, нефректомия, ультраструктура, половозрелые крысы.

UDC 612.46:616.61-089.878:611

Electron Microscopic Changes Only Kidney, Remaining after the Contralateral Nephrectomy, in Immature Rats

Pivtorak V. I., Monastirskiy V. M.

Abstract. Introduction. Morphological changes on single kidney ultrastructural level, after removal of contralateral in immature animals also been insufficiently studied.

The purpose of the study – to characterize the ultrastructural changes of single kidney after contralateral removal in immature rats in the experiment.

Materials and methods. Experimental study done 63 immature male rats weighing 90-148 grams. The animals were divided into control and experimental groups. In the control group of five rats immature age of one and a half months (control 1) did not conduct any interventions; twenty three immature animals under one and a half months (control 2) were carried out under ketamine-anaesthesia opening the abdominal cavity, then layer sewn abdominal wall. All animals experimental group (thirty five immature rats aged one and a half months) performed surgery – nephrectomy of the left

kidney. The animals were taken out of the experiment by intra-pleural administration of thiopental sodium 50 mg/kg every 7, 14, 21, 30, 90, 180 days after nephrectomy.

Results and discussion. Electron microscopic studies of renal cortex of immature animals at 7 and 14 days after nephrectomy experience installing the extension of renal glomerular vascular cells, blood-filled lumen of the blood capillaries. At 21 and 30 days after nephrectomy experience established the existence of compensatory and early signs of destructive changes of components of the nephron. At 60-180 days of the experiment in the basal part of the cytoplasm of cells, membrane folds shorter partly damaged. Mitochondria are losing an orderly arrangement, their matrix becomes osmiophil, it badly defined cristae. The apical portions swollen, hyaloplasm them light has little organelles.

Conclusions. In the early stages of the experiment, there are significant reactive changes in all components of the nephron. In addition to the cortex hypertrophic growing number atrophied, reduced-size kidney cells. Enlightenment capsules increased and uneven. In the later stages of the experiment after nephrectomy established presence as compensatory and destructive changes in the components of the nephron.

Keywords: single kidney, nephrectomy, ultrastructure, immature rats.

Рецензент – проф. Гасюк А. П.
Стаття надійшла 01. 04. 2015 р.