УДК 612.46:616.61-089.878:611

В.І. Півторак, В.М. Монастирський
Кафедра оперативної хірургії та топографічної анатомії (зав. – проф. Г.Я. Костюк), кафедра хірургії факультету післядипломної освіти (зав. – проф. А.І. Суходоля)
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ ПОДОЦИТІВ ЄДИНОЇ НИРКИ ПІСЛЯ ВИДАЛЕННЯ КОНТРЛАТЕРАЛЬНОЇ

Резюме. Авторами проведено ультрамікроскопічне дослідження стану єдиної нирки після нефректомії. Експериментальне дослідження виконано на 60 статевозрілих щурах-самцях масою 155-160 г. Субмікроскопічні дослідження канальців нефронів кіркової речовини нирок статевозрілих тварин на сьому добу після нефректомії встановили, що їх реорганізація носить пристосувально-компенсаторний характер. Це проявляється компенсаторною гіпертрофією структурних компонентів нефронів та реорганізацією судинного русла. У пізні терміни досліду при тривалому функціональному навантажені на єдину нирку, у частини нефронів розвиваються морфофункціональні зміни деструктивного характеру.
Ключові слова: єдина нирка, нефректомія, компенсаторно-пристосувальні реакції, ультраструктура.

Компенсаторні та пристосувальні реакції єдиної нирки після видалення з організму контрлатеральної становлять частину загальної системи пристосування організму у випадках його пошкодження. Відомо, що одностороння нефректомія призводить до збільшення нирки, що залишилася, так званої компенсаторної гіпертрофії. Проте дані літератури з цих питань суперечливі. Ряд дослідників вважає, що організм з єдиною ниркою ні в чому функціонально не уступає такому, що має дві нирки [1, 2]. Інші вчені доводять, що навіть при відсутності ознак ураження єдиної нирки, пацієнти після нефректомії мають обмежені резерви компенсаторних можливостей [3, 4], особливо після нефректомії з приводу пухлини нирки [5, 6]. Доведений високий ризик розвитку сечокам'яної хвороби у пацієнтів, яким виконали радикальну нефректомію. При експериментальних дослідженнях, темпи утворення каменів після односторонньої нефректомії у щурів на літогенній дієті були вище порівняно з контрольними групами з двостороннім функціонуванням нирок. Це мабуть пов'язано з компенсаторною гіпертрофією, наступними структурними та фізіологічними змінами, які призводять до утворення каменів [7]. Останнім часом у літературі з'явилися дані про зміну функції нирки, що залишилася після нефректомії, у живого спорідненого донора. Показано, що в ранньому післяопераційному періоді швидкість клубочкової фільтрації та кліренс креатиніну різко знижуються, а через місяць після операції в єдиній нирці розвивається компенсаторна гіперфільтрація. У більш пізній період відбувається вторинне погіршення функції нирки, що реєструється через 12 місяців після нефректомії [8]. У ретроспективному дослідженні, проведеному W.S. Cherikh та ін. (2011), що вміщує 56458 донорів нирки, в 126 випадках виявлена термінальна стадія ниркової недостатності [9].

Оскільки проблема морфофункціонального аналізу компенсаторних реакцій організму мало вивчена та вимагає подальшої розробки, нами проведено ультрамікроскопічне дослідження стану єдиної нирки після нефректомії.

Мета дослідження: дати морфологічну характеристику ультраструктурних змін єдиної нирки в післяопераційному періоді після нефректомії в експерименті.

Матеріал і методи. *Експериментальне дослідження виконано на 60 статевозрілих щурах-самцях масою 155-160 г 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)".*

© Півторак В.І., Монастирський В.М., 2015

Тварин розподілили на дві групи: інтактні тварини (10 тварин), яким ніяких втручань не проводили; дослідні тварини (50 тварин), яким виконували оперативне втручання – нефректомію лівої нирки. Щурам під загальним внутрішньом'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. Тварин виводили з досліду шляхом внутрішньоплеврального введення тіопенталу-натрію 50 мг/кг через 7, 14, 21 і 30 діб після нефректомії.

Макроскопічна оцінка та описання нирок тварин проводилося після їх вилучення. Для електронномікроскопічного дослідження шматочки нирки фіксували в 2,5%-му розчині глютаральдегіду на 0,1 г фосфатному буфері та дофіксовували в 1%-му розчині чотириокису осмію на фосфатному буфері, 1% розчині таніновими кислотами, зневоднювали 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 ультрамікротомі УМТП-7, вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125 К.

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

Результати дослідження та їх обговорення. Електронномікроскопічні дослідження ниркових тілець нирок інтактних тварин показали, що цитоплазма трабекул та тіл подоцитів відносно електроннопрозора. Ендоплазматична сітка в ній представлена окремими канальцями, на мембранах яких помірна кількість рибосом. Мітохондрій небагато, вони середніх розмірів. Невеликі диктіосоми комплексу Гольджі складаються з окремих цистерн, вакуолей і міхурців. Цитоплазма цитоподій більш осміофільна. В ній спостерігаються тонкі мікрофібрили. Подоцити (внутрішній листок капсули) та ендотеліоцити кровоносних капілярів клубочка мають спільну тришарову базальну мембрану та створюють фільтраційний бар'єр. Цитоплазматичні ділянки ендотеліоцитів тонкі з фенестрами (рис. 1).

Особливістю субмікроскопічної організації епітеліоцитів проксимального відділу нефрону є наявність на апікальній поверхні великої кількості щільно розташованих мікроворсинок, які відділені одна від іншої вузькими щілинами (щіточкова облямівка на світлооптичному рівні). Біля основи мікроворсинок у цитоплазмі спостерігаються піноцитозні кавеоли, міхурці та невеликі вакуолі. Ядра переважно округлої форми, з чіткими контурами мембран каріолеми, неширокими перинуклеарними просторами.

Гранулярна ендоплазматична сітка в епітеліоцитах проксимального відділу нефрона представлена невеликою кількістю плоских або помірно розширених цистерн. У цитоплазмі виявляються вільні рибосоми та полісоми. В базальній частині клітин цитолема утворює вузькі складки, між ними наявні мітохондрії, які мають вигляд округло-овальних або довгастих структур і розташовуються переважно паралельно між складками мембран, перпендикулярно до базальної мембрани (рис. 2).

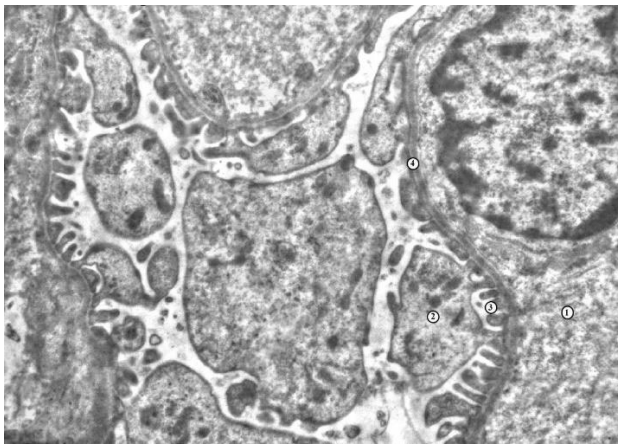

Рис. 1. Субмікроскопічний стан компонентів судинного клубочка нирки статевозрілої інтактної тварини. Просвіт гемокапіляра (1), цитотрабекула (2), цитоподії (3), базальна мембрана (4). x12000

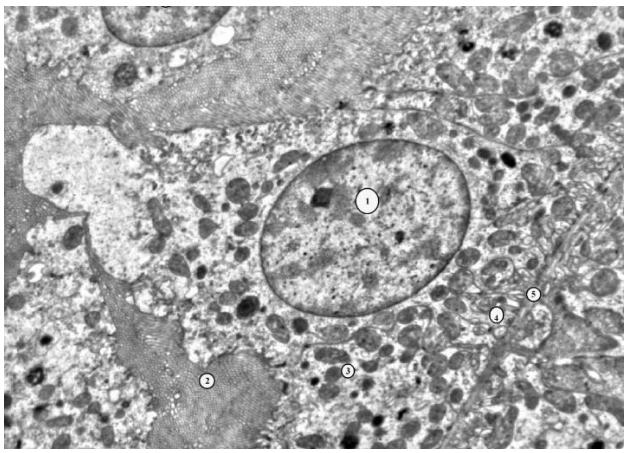

Рис. 2. Субмікроскопічна організація епітеліоцита проксимального відділу нефрона нирки статевозрілої інтактної тварини. Округле ядро (1), мікроворсинки на апікальній поверхні (2), мітохондрії (3), мембранні складки (4), базальна мембрана (5). x10000

Електронномікроскопічні дослідження епітеліоцитів дистальних канальців показали, що в нормі в різних вікових груп тварин не відмічається різниці структури ядра і цитоплазми. Клітини цього відділу нефрону мають електронносвітлу гіалоплазму, в апікальній частині – мало органел, в базальному полюсі спостерігаються глибокі складки плазмолеми та мітохондрії, орієнтовані паралельно до них.

Гемокапіляри в складі перитубулярної сітки, що оточують звивисті канальці, нутрощевого типу, мають нешироκі просвіти. Базальна мембрана таких судин добре контурована, в ній добре сформований середній фібрилярний шар. Ендотеліоцити кровоносних капілярів переважно довгастої форми. В каріоплазмі довгастої ядер наявні еухроматинові та гетерохроматинові ділянки, каріолема має відносно рівномірний перинуклеарний простір. Витончена периферійна ділянка ендотеліоцитів включає фенестри, а в цитоплазмі спостерігаються піноцитозні пухирці, окремі мітохондрії, рибосоми.

На 7-у та 14-у добу після нефректомії у судинних клубочках ниркових тілець гемокапіляри мають кровонаповненні просвіти. У цитоплазматичних ділянках ендотеліоцитів фенестри добре виразні, помітно розширені. У довгастої форми ядер каріоплазму складає переважно еухроматин, каріолема має інвагінації, перинуклеарні простори частково потовщені. Базальна мембрана відносно рівномірна, наявні ділянки її потовщення, але тришарова будова збережена. Від тіл подоцитів відходять широкі цитотрабекули. Цитоподій багато, вони різних розмірів, щільно контактують з базальною мембраною. Добре виражені чіткі просвіти між цитоподіями (рис. 3).

Рис. 3. Субмікроскопічні зміни компонентів судинного клубочка нирки статевозрілої тварини на 7-у добу після нефректомії. Просвіт гемокапіляра (1), цитотрабекула (2), цитоподії (3), базальна мембрана (4). x12000

Субмікроскопічні дослідження канальців нефронів кіркової речовини нирок статевозрілих тварин в ці терміни досліду встановили, що їх реорганізація носить пристосувально-компенсаторний характер. У проксимальних і дистальних канальцях епітеліоцити включають круглі ядра з чіткими мембранами каріолем, перинуклеарні простори нешироκі, рівномірні. В окремих ядрах наявні ядерця та багато рибосомальних гранул. У цитоплазмі епітеліоцитів спостерігаються гіпертрофовані і середні за розмірами мітохондрії, кристи яких чіткі, наявні невеликі органели. Також наявні також білкові включення, вони осміофільні, переважно округлі. Відмічаються складки плазматичної мембрани у базальній частині епітеліоцитів, а на апікальній довгі мікроворсинки. У базальних частинах цитоплазми епітеліоцитів дистальних звивистих канальців мембранні складки довгі та добре контуровані. Між ними упорядковано розташовані та відносно добре орієнтовані мітохондрії. У таких ділянках вони мають переважно довгасту форму й упорядковане розташування, перпендикулярно базальній мембрані. Базальна мембрана чітка, помірної товщини, відмежовує кровоносні капіляри, що мають широкі просвіти (рис. 4). Крім добре збережених ендотеліоцитів в стінці гемокапілярів перитубулярної сітки, спостерігаються клітини з набряклою цитоплазмою. Базальна мембрана

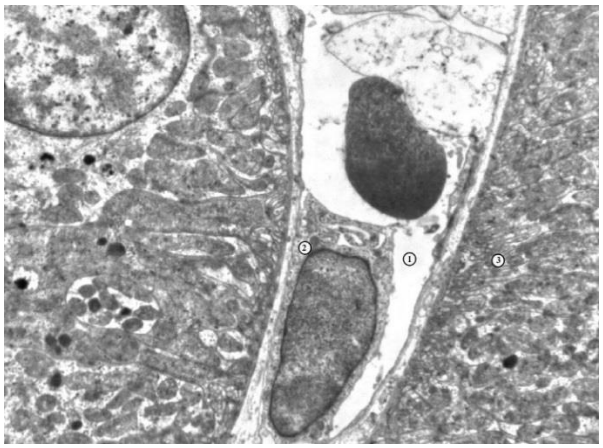

Рис. 4. Субмікроскопічні зміни гемокапіляра та епітеліоцита дистального відділу нефрона нирки статевозрілої тварини на 14 добу після нефректомії. Просвіт капіляра (1), ендотеліоцит (2), мембранні складки (3), мітохондрії (4). x17000

у таких ділянках потовщена, стає електроннопрозорою, втрачає тришарову будову.

На 21-у добу після експериментальної нефректомії гістологічно встановлено значні зміни судин і структурних компонентів нефронів. Наявний набряк строми, вогнищева інфільтрація. У кірковій речовині крім гіпертрофованих збільшу -

ється кількість атрофованих, зменшених за розмірами ниркових тілець. Просвіти капсул збільшені і нерівномірні. Ультраструктура подоцитів подібна попереднім термінам досліду. Від їх тіл відходять широкі цитотрабекули, які закінчуються численними цитоподіями, що щільно контактують з базальною мембраною. Відмічається гетерогенність таких структур, вони мають різні розміри та форму.

Подібні зміни встановлені в проксимальних звивистих канальцях нефронів кіркової речовини нирок статевозрілих тварин на 30 добу. У складі стінки виявляються також деструктивно змінені

Рис. 5. Субмікроскопічні зміни епітеліоцитів проксимального відділу нефрона нирки статевозрілої тварини на 30 добу після нефректомії. Клітина з осміофільною цито- і каріоплазмою (1), ядро (2) і цитоплазма (3) збереженої клітини, білкові включення (4). х10000

"темні", з осміофільною цитоплазмою епітеліоцити. В їх невеликої площі тілах є пікнотичні, неправильної форми ядра. Органели деструктивно змінені та погано виявляються на тлі осміофільної гіалоплазми. Мембранні складки у базальній ділянці таких клітин та мікроворсинки на апікальній поверхні порушені (рис. 5).

Подібні ультраструктурні зміни спостерігаються у дистальних звивистих канальцях нефронів нирок статевозрілих тварин. Гемокапіляри перитубулярної сітки мають розширені та помірні просвіти. Вастині ендотеліоцитів – невеликі з осміофільною каріоплазмою ядра, набрякла цитоплазму з пошкодженими органелами. Фенестрація цитоплазматичних ділянок ендотеліальних клітин погано визначається. Базальна мембрана місцями потовщена, нечітко контурована.

Висновки. В ранні терміни після нефректомії відбуваються пристосувально-компенсаторні зміни. Це обумовлено компенсаторною гіпертрофією структурних компонентів нефронів та реорганізацією судинного русла. У пізні терміни досліду при тривалому функціональному навантажені на єдину нирку, у частини нефронів розвиваються морфофункціональні зміни деструктивного характеру.

Перспективи подальших досліджень. Оскільки вирішальна роль у формуванні компенсаторно-пристосувальних реакцій нирки, що залишилася після односторонньої, нефректомії належить рівню фізіологічної регенерації органу перспективно визначити їх особливості у нестатевозрілих щурів.

Список використаної літератури

1. Quality of life of living kidney donors: a single-center experience / A. Shrestha, A. Shrestha, C. Vallance [et al.] // Transplant. Proc. – 2008. – Vol. 40, № 5. – P. 1375-1377. 2. Live related donors in India: Their quality of life using world health organization quality of life brief questionnaire / S.K. Vemuru Reddy, S. Guleria, O. Okechukwu [et al.] // Indian J. Urol. – 2011. – Vol. 27, № 1. – P. 25-29. 3. Comparison of rates and risk factors for developing chronic renal insufficiency, proteinuria and metabolic acidosis after radical or partial nephrectomy / J.B. Malcolm, A. Bagrodia, I.H. Derweesh [et al.] // B. J. U. Int. – 2009. – Vol. 104, № 4. – P. 476-481. 4. Impaired kidney function in rats six months after unilateral nephrectomy – an old story, a new perspective / V. Orsić, M. Mihalj, M. Mogus [et al.] // Med. Glas. (Zenica). – 2011. – Vol. 8, № 2. – P. 185-191. 5. Comparison of renal function following donor nephrectomy versus radical nephrectomy for renal tumor / M. Etafy, F. Saleh, M.A. Abdel Aal [et al.] // Saudi J. Kidney Dis. Transpl. – 2015. – Vol. 26, № 2. – P. 238-242. 6. Chronic Renal disease after nephrectomy in patients with renal cortical tumours: A retrospective cohort study / W.C. Huang, A.S. Levey, A.M. Serio [et al.] // Lancet Oncol. – 2006. – Vol. 7. – P. 735-740. 7. Variation in the incidence of and risk factors for the development of nephrolithiasis after radical or partial nephrectomy / A. Bagrodia, J.B. Malcolm, C.J. Diblasio [et al.] // B. J. U. Int. – 2010. – Vol. 106, № 8. – P. 1200-1204. 8. Марченко Т.В. Функциональное состояние единственной почки после нефрэктомии у живых доноров родственной почки: так ли все просто? / Т.В. Марченко, Ю.А. Морозов, Л.Г. Долецкая // Почки. – 2014. – № 1(07). – С. 14-17. 9. Ethnic and gender related differences in the risk of endstage renal disease after living donation / W.S. Cherikh, C.J. Young, B.F. Kramer [et al.] // Am. J. Transplant. – 2011. – Vol. 11. – P. 1650-1655.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОДОЦИТОВ ЕДИНСТВЕННОЙ ПОЧКИ ПОСЛЕ УДАЛЕНИЯ КОНТРЛАТЕРАЛЬНОЙ

Резюме. Авторами проведен ультрамикроскопические исследования состояния единственной почки после нефрэктомии. Экспериментальное исследование выполнено на 60 половозрелых крысах-самцах массой 155-160 г. Субмикроскопические исследования канальцев нефронов коры почек половозрелых животных на седьмые сутки после нефрэктомии установили, что их реорганизация носит приспособительно-компенсаторный характер. Это проявляется компенсаторной гипертрофией структурных компонентов нефронов и реорганизацией сосудистого русла. В поздние сроки опыта, при длительной функциональной нагрузке на единую почку, в части нефронов развиваются морфофункциональные изменения деструктивного характера.

Ключевые слова: единственная почка, нефрэктомия, компенсаторно-приспособительные реакции, ультраструктура.

ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF PODOCYTES OF THE SINGLE KIDNEY AFTER REMOVAL OF THE CONTRALATERAL ONE

Abstract. The authors have conducted ultramicroscopic study of the condition of one kidney left after nephrectomy. The experimental study was performed on 60 adult male rats weighing 155-160 g. Ultramicroscopic study of renal tubules of the kidney cortex of mature animals on the seventh day after nephrectomy found that their reorganization was of an adaptive-compensatory character. This is manifested by compensatory hypertrophy of the structural components of nephrons and reorganization of the vascular bed. In the later stages of experience with the long functional load on a single kidney, a part of nephrons develop morphological changes of a destructive nature.

Key words: single kidney, nephrectomy, compensatory-adaptive reactions, ultrastructure.

M.I. Pyrohov National Medical University (Vinnytsya)

Надійшла 25.04.2015 р.
Рецензент – проф. Зайцев В.І. (Чернівці)