

**СТРУКТУРНІ ЗМІНИ НИРОК В ЩУРІВ У ВІДДАЛЕНІ ПЕРІОДИ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХОЛЕСТАЗУ****ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (м. Тернопіль)****marya_k@ukr.net**

Дана робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри медичної біохімії, клініко-лабораторної діагностики, загальної гігієни та екології, фармацевтичної хімії, медичної біології Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського «Біохімічні механізми токсичності наночастинок різної природи та інших антропогенних і біогенних токсикантів в біологічних системах», № державної реєстрації 0112U000542.

Вступ. З кожним новим десятиліттям у світі відмічається значне зростання кількості хворих із гострими й хронічними захворюваннями нирок, що пов'язані з патологією печінки і жовчних шляхів та виникненням ряду ускладнень в інших органах та порушенням при цьому обмінних процесів. У таких пацієнтів на початку патологічного процесу в печінці функціональні зміни у нирках в подальшому можуть закінчитися морфологічними змінами [2,3]. У багатьох наукових працях вказані захворювання, при яких одночасно уражаються печінка і нирки – органи, що функціонально нерозривно пов'язані між собою: вроджені порушення, метаболічні, системні захворювання, інтоксикації, інфекції, операції на жовччевивідних шляхах, травми печінки тощо [2-5,7-9]. Ступінь ушкодження печінки і нирок при дії різних чинників різний. Прогноз визначається широким діапазоном варіабельності, після виключення первинних та вторинних захворювань нирок при патології печінки з нирковими симптомами найбільш вірогідним є діагноз гепаторенального синдрому [2-5,7,10,11,13]. Гепаторенальний синдром – це важка функціональна гостра ниркова недостатність у хворих, які мають виражену печінкову недостатність в результаті гострого чи хронічного захворювання печінки, при одночасній відсутності іншої причини ниркової недостатності (хронічні захворювання нирок, прийом нефротоксичних препаратів) [4,5,8,13]. Патогенез ураження нирок при захворюваннях печінки складний і на сьогодні не достатньо вивчений, а тому без більш повної картини механізмів розвитку цього синдрому неможливе формування інформативних діагностичних підходів і успішної терапевтичної стратегії. Тому актуальним є комплексне вивчення змін структурних компонентів нирки в умовах холестазу, що потребує експериментальних досліджень.

Метою роботи було встановити перебудову структурних компонентів нирки щурів у віддалені періоди експериментального холестазу.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження виконано на 30 статевозрілих безпородних білих щурах-самцях з масою тіла 180-190 г, які утримувались у стандартних умовах віварію. Експериментальний холестаза у щурів моделювали, накладаючи подвійну лігатуру на спільну жовчну протоку з наступним її пересіченням. Контролем слугували псевдооперовані тварини. Евтаназію щурів здійснювали шляхом кровопускання за умов тіопенталового наркозу на 28 добу від початку досліду.

Всі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили із дотриманням правил відповідно до «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» [12] та «Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними» [6].

Для гістологічних досліджень матеріал забирали у попередньо зважених тварин. Зразу ж після видалення нирки її зважували і вирізали із середньої частини органу шматочки для мікроскопічного дослідження. Матеріал фіксували протягом 2-3 тижнів в 10% розчині нейтрального формаліну з триразовою зміною фіксатора, потім зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації і заливали у парафінові блоки. Зрізи товщиною 5-6 мкм, забарвлені гематоксилін-еозином, досліджували у світлооптичному мікроскопі і документували. Для об'єктивної характеристики адаптаційних та деструктивних змін стану ниркових тілець та звивистих каналців проводили їх морфометрію, яка за останні десятиліття набула широкого застосування в медико-біологічних дослідженнях, що створюють можливість отримати кількісну характеристику фізіологічних та патологічних процесів. При морфометрії нирки дотримувалися методичних підходів та правил Г. Г. Автанділова [1]. Дослідження проводили, використовуючи систему візуального аналізу гістологічних препаратів. Зображення на монітор комп'ютера виводили з мікроскопу ЛОМО Биолам И за допомогою відеокамери Vision CCD Camera і програми InterVideoWinDVR.

В межах кіркової речовини нирки оцінювали площі ниркових тілець, судинних клубочків та капсул ниркових тілець нефронів, площі та діаметри ниркових каналців, їх клітин та ядер. Отриманий в результаті експерименту цифровий матеріал був систематизований та оброблений за допомогою методів варіаційної статистики із використанням програми «Statsoft STATISTICA».

Результати досліджень та їх обговорення. Гістологічний аналіз встановив, що структура основних елементів нефрона контрольних тварин була звичайною.

Через 28 днів після моделювання експериментального холестази встановлено, що зміни відбувались як у кірковому шарі, так і в мозковому шарі нирки. Площа ниркового тільця зменшувалась на 18,8% ($p < 0,05$) як за рахунок зменшення площі ниркового клубочка на 10,8% ($p < 0,05$), так і за рахунок зменшення площі просвіту капсули на 33,6% ($p < 0,05$) (рис. 1). При цьому кровонаповнення судин знижувалось (рис. 2), а епітеліоцити зазнавали незначних змін у вигляді слабкої дистрофії.

Строма мозкової речовини візуалізувалась слабо, мало місце нерівномірне кровонаповнення судин переважно венозного типу (рис. 3). Порушення кровонаповнення різко знижувало трофіку тканини і це відображалось на структурних змінах епітелію. Висота епітеліоцитів зменшувалась на 14,3% ($p < 0,05$), в основному за рахунок порушення структурної організації клітин, переважно розширення на 14,4% ($p < 0,05$), цитоплазма ставала зернистою, окремі ядра клітин змінювали свою локалізацію, контакти між ними залишались частково порушеними. Площа переважної більшості ядер клітин зростала на 51,5% ($p < 0,001$), що свідчить про посилення регенераторної активності епітеліоцитів.

Площа просвітів проксимальних каналців зменшувалась на 62,2% ($p < 0,05$) (рис. 2). Окремі із них містили фібринозний ексудат (рис. 2). В просвітах окремих каналців візуалізувались поодинокі злушені епітеліоцити.

В дистальних звивистих каналцях спостерігалось різке зростання їх просвітів в 4,1 рази ($p < 0,001$), переважно за рахунок розвитку дистрофічних змін епітеліоцитів, які виникали внаслідок

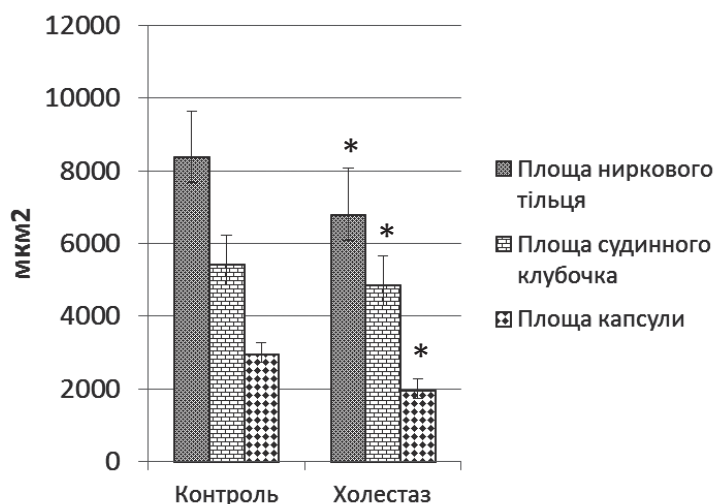


Рис. 1. Морфометричний аналіз компонентів клубочка нирки при експериментальному холестазі.

Примітка: * – $p < 0,05$ – різниця достовірна відносно контрольної групи тварин.

порушеної трофіки. Зменшення розмірів та форм епітеліоцитів та незначна гіпертрофія ядер клітин через 28 діб експерименту свідчить про виражені структурні зміни та посилені процеси проліферації, а також порушення регенерації епітелію, що буде відображатись і функціональними порушеннями.

Висновок.

Таким чином, при експериментальному холестазі у віддалені періоди в нирках розвиваються переважно застійні явища, які призводять до порушення структурної організації епітеліального компоненту.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження стану усіх компонентів нефрону допоможуть обґрунтувати патоморфогенез патологій нирки при експериментальному холестазі, що потрібно враховувати при діагностиці, корекції, профілактиці даної патології та прогнозуванні її наслідків.

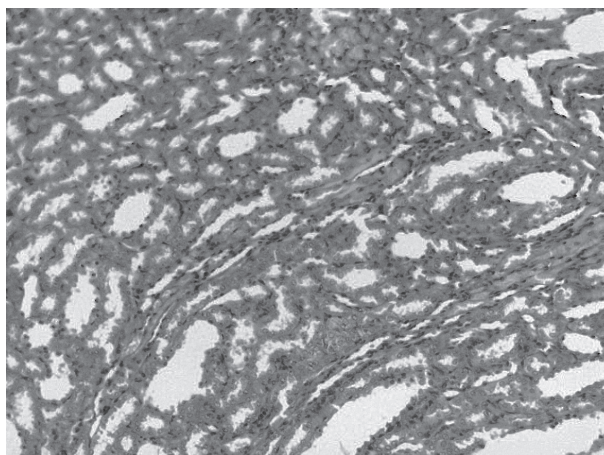


Рис. 2. Знижене кровонаповнення судин клубочків нирки щура з експериментальним холестазом. Забарвлення гематоксилином та еозином. х 100

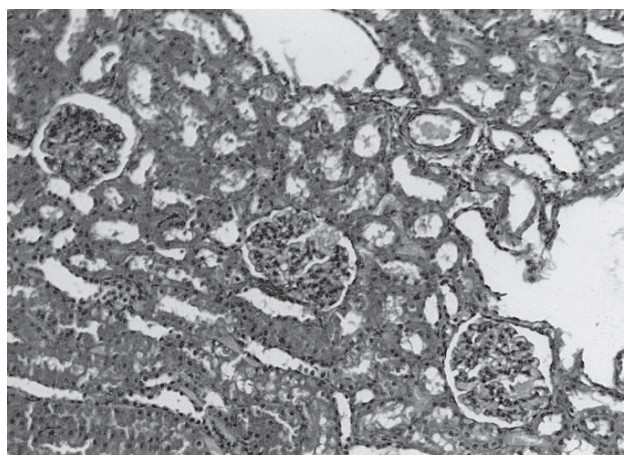


Рис. 3. Нерівномірне кровонаповнення судин переважно венозного типу нирки щура з експериментальним холестазом. Забарвлення гематоксилином та еозином. Ч 100.

Література

1. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии / Г. Г. Автандилов – М.: Медицина, 2002. – 240 с.
2. Абрагамович О. О. Гепаторенальный синдром: особенности патогенезу, діагностики, клінічного перебігу та лікування / О. О. Абрагамович, М. О. Абрагамович // Львівський медичний часопис. -Л., 2011. – Т. 17, № 2. – С. 107-113.
3. Белявський В. В. Патогенез гепаторенального синдрому / В. В. Белявський, Ю. Є. Роговий // Буковинський медичний вісник – 2010, Т. 14, № 3 (55). – С. 119-123.
4. Гепаторенальный синдром в практиці сімейного лікаря (критерії діагнозу та лікування) / В. М. Савченко, Є. Я. Ніколенко, О. В. Сокруто, К. В. Вовк // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. – 2009. – № 855, Серія Медицина. – Вип. 17. – С. 63-72.
5. Мамаев С. Н. Гепаторенальный синдром 1-го и 2-го типа: современное состояние проблемы / С. Н. Мамаев, А. М. Каримова // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2008. – Т. 18, № 6. – С. 4-14.
6. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова – Київ: Авіцена, 2002. – 156 с.
7. Патогенетичні аспекти гепаторенального синдрому / М. І. Куліцька, Д. Б. Миронюк, І. Я. Криницька, О. З. Яремчук // Медична та клінічна хімія. – 2015. – Т. 17, № 1 (62). – С. 114-120.
8. Русин В. І. Особливості формування ендотоксемії та застосування детоксикаційної терапії у хворих з хронічною печінковою недостатністю, ускладненою гепаторенальним синдромом / В. І. Русин, Н. М. Маляр // Експериментальна і клінічна медицина – 2009, № 4. – С. 88-90.
9. Стан системи кровообігу у хворих на дифузні ураження печінки: огляд сучасної літератури та опис власного клінічного випадку / О. О. Абрагамович, М. Л. Коцовська, М. О. Абрагамович, У. О. Абрагамович // Acta Medica Leopoliensia. – 2011. – № 3. – С. 114-125.
10. Accumulation of symmetric dimethylarginine in hepatorenal syndrome / P. Luch, M. D. Mauricio, J. M. Vila, G. Segarra, P. Medina, J. A. Del Olmo, J. M. Rodrigo, M. A. Serra // Exp. Biol. Med. – 2006. – Vol. 231. – P. 70-75.
11. Arroyo V. Review article: hepatorenal syndrome – how to assess response to treatment and nonpharmacological therapy / V. Arroyo // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2008. – Vol. 20 (Suppl. 3). – P. 49-54.
12. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 56 p.
13. Hepatorenal Syndrome: Pathophysiology and Management / H. M. Wadei, M. L. Mai, N. Ahsan, T. A. Gonwa // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. – 2006. – Vol. 1. – P. 1066-1079.

УДК 611.611-091.8-02:616.367-005.3]-092.9

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ НИРОК В ЩУРІВ У ВІДДАЛЕНІ ПЕРІОДИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХОЛЕСТАЗУ **Куліцька М. І.**

Резюме. В експерименті на безпородних білих щурах-самцях вивчали зміни структурних компонентів нирки щурів у віддалені періоди експериментального холестаза. Встановлено, що через 28 діб від початку дослідження відбувається структурна перебудова епітеліоцитів як у проксимальних так і в дистальних каналцях із переважанням змін в останніх.

Ключові слова: нирка, експериментальний холестаз, морфологічні зміни.

УДК 611.611-091.8-02:616.367-005.3]-092.9

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОЧЕК У КРЫС В ОТДАЛЕННЫЕ ПЕРИОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХОЛЕСТАЗА **Кулицкая М. И.**

Резюме. В эксперименте на беспородных белых крысах-самцах изучали изменения структурных компонентов почки крыс в отдаленные периоды экспериментального холестаза. Установлено, что через 28 суток от начала опыта происходит структурная перестройка эпителиоцитов, как в проксимальных, так и в дистальных каналцах с преобладанием изменений в последних.

Ключевые слова: почка, экспериментальный холестаз, морфологические изменения.

UDC 611.611-091.8-02:616.367-005.3]-092.9

KIDNEY STRUCTURAL CHANGES IN RATS WITH UNDERLYING EXPERIMENTAL LONG TERM CHOLESTASIS **Kulitska M. I.**

Abstract. Lately the world faces a significant increase of acute and chronic kidney disease incidence related to hepatic and biliary disorders, and other organs complications, and thus metabolic processes derangement. Kidney damage pathogenesis with underlying liver diseases is complicated and not studied reasonably for the moment. So, informative diagnostic approaches and successful therapeutic strategy is impossible without a complete picture of this syndrome mechanisms. That is why a comprehensive study of kidney structural changes in presence of cholestasis needs urgent experimental studies.

The aim of the research was to define kidney structural change in rats with underlying experimental long term cholestasis.

Cholestasis was simulated in 30 mature male rats, 180-190 g of weight, by applying double ligation to choledochous duct with its further junction. In control group there were pseudo-operated animals. Euthanasia to the rats

was administered by depletion under thiopental anesthesia in 28 days from the experiment beginning. All manipulations for experimental animals were carried out due to the bioethical principles.

For histologic study, slices were cut from the middle of a kidney and treated due to common methods. Renal cells, glomerula of the renal corpuscle and nephron renal cell capsules size, size and diameter of renal tubules, their cells and nuclei were estimated within a renal cortex. The results of the experiment were systematized and processed with variation statistics methods by means of program Statsoft STATISTICA.

The nephron structural elements in control animals were normal due to histologic study.

In 28 days after experimental cholestasis simulation it was found out that changes occurred in renal cortex and in renal medullary area. The size of renal corpuscles decreased due to reducing of renal medullary tuft and capsular teeth sizes. Furthermore, vessels blood filling was decreased and epithelial cells were fractionally changed manifesting as slight degeneration.

Medullary substance stroma was poorly observed, there was diffuse vessel blood filling, mostly venous. Blood filling disturbance severely decreased tissue trophic and this affected epithelium structural changes. Epithelial cells dimension decreased, mainly caused by cell structural derangement; cytoplasm became granular, some cell nuclei changed their disposition, their junctions remained partly interrupted. Size of the most nuclei increased, which is proved by epithelial cells regenerative process enhancement.

The size of proximal tubules lumens decreased. Some of them contained fibrinous exudate. In lumens of some tubules single desquamated epithelial cells were observed.

In distal convoluted tubules, an intense increase of their lumens was discovered, mainly due to the development of dystrophic epithelial changes that was caused by bradytrophia. Epithelial cells size and form decrease and mild nuclei hypertrophy in 28 days of the experiment proved the significant structural changes and intense proliferation and also epithelial repair disruption that will be proved when functional diseases occur.

Consequently, in cases of experimental long term cholestasis in kidneys mostly engorgement, leading to epithelial component structural disruption, develops.

Keywords: kidney, experimental cholestasis, morphological changes.

Рецензент – проф. Шепітько В. І.

Стаття надійшла 05.10.2015 р.