

УДК 612.46:616.61-089.878:611
DOI: 10.24061/1727-0847.17.4.2018.9

В.І. Півторак, В.М. Монастирський*, І.В. Булько**

Кафедри клінічної анатомії та оперативної хірургії (зав. – проф. В.І. Півторак),

**хірургії факультету післядипломної освіти (зав. – проф. А.І. Суходоля),*

***анатомії людини (зав. – проф. В.О. Тихолаз) Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова*

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК СТАТЕВОЗРІЛИХ І СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ САМЦІВ ЩУРІВ

Резюме. Мета роботи. Дати характеристику структури нирок у статевонезрілих і статевозрілих щурів. Матеріал і методи. Експериментальне дослідження виконано на білих нелінійних щурах-самцях, яких розподілили на дві вікові групи: статевонезрілі (12 тварин) з масою тіла 60-80 г, статевозрілі (12 тварин) з масою тіла 180-200 г. Проведено світлооптичне, морфометричне та електронно-мікроскопічне дослідження нирок. Результати. У статевозрілих щурів-самців порівняно з статевонезрілими площі ниркових тілець, судинних клубочків, просвітів капсул були більшими на 23,5-24,0%. Середня площа проксимальних канальців нефрона статевозрілих щурів-самців була більшою на 12,7%, а площа їх просвітів була більшою на 25,1%. Середня площа дистальних канальців нефрона була більшою на 13,9%, а площа їх просвітів – на 14,0%. Висновок. Морфофункціональний стан нирок у статевонезрілих і статевозрілих щурів-самців не має принципових відмінностей. Морфометричні параметри нефронів та їх структурних компонентів були статистично значуще більшими при дослідженні нирок статевозрілих щурів порівняно зі статевонезрілими.

Ключові слова: нирки; структура; ультраструктура; статевонезрілі щури; статевозрілі щури.

Розвиток нирок у гризунів, на відміну від людини, не закінчується при народженні, а продовжується у ранньому післянатальному періоді [1]. Дані дослідників свідчать про те, що розвиток нирок ще не завершено до 20-го дня вагітності самок щурів, але майже завершено в перший післяпологовий тиждень [2]. Під час постнатального розвитку нирки, незрілі нефрони можуть спостерігатися на зовнішній поверхні її кори, в той час як зрілі нефрони знаходяться поруч з мозковою речовиною нирки. Встановлено також, що гестаційний дефіцит заліза у дієті самок щурів гальмує розвиток нирок [3].

Багатьма вченими досліджені функціональні зміни нирок у віковому аспекті [4]. Характерними особливостями функцій нирок у інтактних статевонезрілих щурів по відношенню до статевозрілих тварин були нижчі показники діурезу, клубочкової фільтрації, екскреції креатиніну, іонів калію, білка сечі, та неістотні втрати іонів натрію за збільшення екскреції аміаку та амонійного коефіцієнта [5]. За умов гіпо- та гіперфункції шишкоподібної залози не виявлено істотних відмінностей щодо екскреторної та іонорегулювальної функцій нирок у статевонезрілих щурів по відношенню до статевозрілих. Отримані дослідниками

результати морфофункціональних змін нирок при моделюванні різних патологічних процесів демонструють принципові відмінності у статевонезрілих щурах адаптаційних реакцій порівняно з дорослими тваринами [6]. Вагові, макрометричні, морфометричні та гістологічні дані експериментальних тварин різних вікових груп свідчать, що більше змінюються і пошкоджуються нирки статевонезрілих і менше нирки статевозрілих щурів [7].

Питання, пов'язані з будовою нирок гризунів у віковому аспекті є маловивченими [8]. Тому порівняльне дослідження структури нирок статевозрілих та статевонезрілих щурів є важливим і актуальним завданням для анатомів, гістологів, ембріологів і практичних ветеринарних лікарів.

Мета дослідження: дати характеристику структури нирок у статевонезрілих і статевозрілих щурів.

Матеріал і методи. Експериментальне дослідження виконано на білих нелінійних щурах-самцях, які утримувались на стандартному раціоні віварію Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова при природному освітленні і вільному доступі до води та їжі. 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 дві вікові групи: статевонезрілі (12 тварин) з масою тіла 60-80 г (період самостійного харчування до початку статевого дозрівання), статевозрілі (12 тварин) з масою тіла 180-200 г. Тварин виводили з дослідів шляхом внутрішньоплеврального введення тіопенталу-натрію в дозі 50 мг/кг.

Макроскопічна оцінка та описання нирок тварин проводилося після їх вилучення. Зріз нирки фіксували впродовж 3 діб при $+4^{\circ}\text{C}$ в 10% розчині формаліну на фосфатному буфері (рН 7,4). Після відповідної проводки через спирти зростаючої міцності органи заливали в парафін з використанням в якості проміжного середовища бензолу. Мікропрепарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа SEO SCAN та фотодокументували за допомогою відеокамери Vision CCD Camera з системою виводу зображення гістологічних препаратів.

Для електронно-мікроскопічного дослідження шматочки нирки фіксували в 2,5%-ному розчині глутаральдегіду 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 суміші епону й аралдиту. Морфологічні структури контрастували в процесі зневоднення матеріалу насиченим розчином уранілацетатом, а на зрізах – цитратом свинцю. Зрізи товщиною 40-60 нм, отримані на ультрамікромомі 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. Гістологічні дослідження нирки інтактних щурів показали, що структурна організація компонентів нефрону не має видових особливостей і вона не має відмінностей будови у статевонезрілих і статевозрілих тварин. На світлооптичному рівні в кірковій речовині органа спостерігаються ниркові тільця, які являють собою круглі або овальні структури. В них наявні судинний клубочок та капсула Шумлянського-Боумена. Капсула побудо-

вана з двох епітеліальних листків, між якими є неширокий простір. Судинний клубочок утворений капілярами між приносячою та виносячою артеріолами.

Морфометрично встановлено, що середні значення площ ниркових тілець інтактних білих щурів дорівнюють 3681 ± 83 мкм² (статевонезрілі) та 4813 ± 109 мкм² (статевозрілі), відповідно середні значення судинних клубочків – 3297 ± 75 мкм² (статевонезрілі) та 4308 ± 94 мкм² (статевозрілі), а середні значення просвітів капсул – 384 ± 9 мкм² (статевонезрілі) та 505 ± 13 мкм² (статевозрілі).

Стінка звивистих каналців нефронів є сукупністю епітеліальних клітин, розташованих в один шар на базальній мембрані. Канальці мають круглу або округло-овальну форму залежно від площини перерізу.

Проксимальні каналці – це епітеліальні трубочки, що побудовані клітинами циліндричної форми. Їх ядра мають переважно круглу форму, розташовані в базальній частині клітин, а каріоплазма забарвлена базофільно. Цитоплазма таких епітеліоцитів світлооптично не прозора, неоднорідна, містить білкові включення. Характерною відмінністю епітеліоцитів проксимального відділу є те, що їх вільна апікальна поверхня обернена в неширокий просвіт каналця вкрита щітковою облямівкою. Особливістю епітеліоцитів також є посмугованість цитоплазми в базальних ділянках клітин.

Епітеліоцити, які утворюють стінку дистального відділу нефрона, менші за висотою. Круглі ядра локалізуються переважно в центрі клітин, включають базофільні грудки гетерохроматину. Цитоплазма – світла, особливо в апікальних ділянках. У цих клітин відсутня щіткова облямівка, а базальна посмугованість добре виражена (рис. 1).

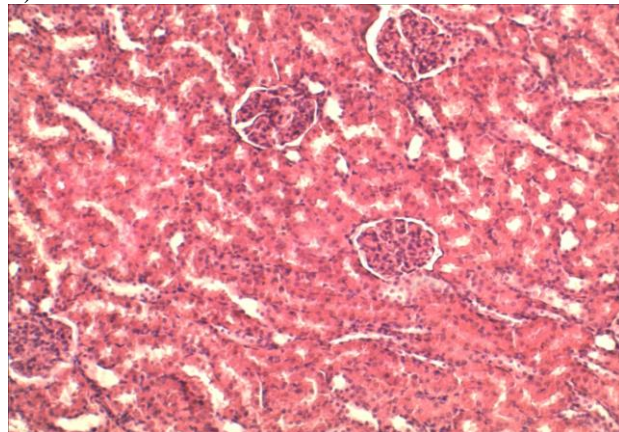


Рис. 1. Мікроскопічна будова кіркової речовини нирки статевонезрілої інтактної тварини. Округлі ниркові тільця, чітко виражені каналці нефрона. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 200$

Морфометрично встановлено, що середні значення площ проксимальних канальців нефрона нирок інтактних тварин дорівнюють 760 ± 21 мкм² (статевонезрілі) та 871 ± 24 мкм² (статевозрілі), а середні значення площ їх просвітів дорівнюють 245 ± 8 мкм² (статевонезрілі) та 327 ± 9 мкм² (статевозрілі). Середні значення площ дистальних канальців нефрона нирок інтактних тварин дорівнюють 540 ± 13 мкм² (статевонезрілі) та 627 ± 18 мкм² (статевозрілі), а середні значення площ їх просвітів дорівнюють 271 ± 7 мкм² (статевонезрілі) та 315 ± 9 мкм² (статевозрілі).

Строма органа представлена тонкими прошарками пухкої сполучної тканини, яка розташована між канальцями та оточує судини.

Зовнішній листок капсули ниркового тільця створений плоскими клітинами, що мають подовгасті ядра і вузькі цитоплазматичні ділянки. Внутрішній листок капсули щільно охоплює з усіх боків капіляри клубочка. Він утворений неправильної форми епітеліоцитами – подоцитами. Від їх тіл відходять декілька довгих широких відростків – цитотрабекул. Останні контактують з базальною мембраною, а з протилежної сторони цієї мембрани лежать ендотеліальні клітини гемокапілярів клубочка, що мають вузьку цитоплазму. В тілах подоцитів розташовані ядра овальної форми з дрібнозернистим гетерохроматином (рис. 2).

Електронно-мікроскопічні дослідження ниркових тілець нирок статевонезрілих та статевозрілих 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 розмі-

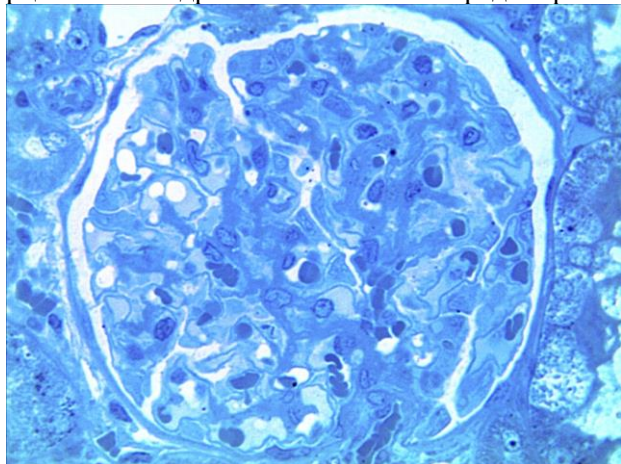


Рис. 2. Мікроскопічна організація компонентів нефрона кіркової речовини нирки статевозрілої інтактної тварини. Напівтонкий зріз, забарвлення толуїдиновим синім. $\times 800$

рів 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.

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 епітеліоцитів дистальних канальців показали, що в нормі у різних вікових груп тварин не відмічається різниці структури ядра і цитоплазми. Клітини цього відділу нефрона мають електроннопрозиту гіалоплазму, в апікальній частині – мало органел, в базальному полюсі спостерігаються глибокі складки плазмолем та мітохондрії, орієнтовані паралельно до них (рис. 3).

Гемокапіляри в складі перитубулярної сітки, що оточують звивисті канальці, вісцерального типу, мають неширокі просвіти. Базальна мемб-



Рис. 3. Субмікроскопічна організація епітеліоцита дистального відділу нефрона нирки статевозрілої інтактної тварини. Просвіт капіляра (1), ендотеліоцит (2), базальна мембрана (3), цитоплазма епітеліоцита (4). $\times 12\ 000$

рана таких судин добре контурована, в ній добре сформований середній фібрилярний шар. Ендотеліоцити кровоносних капілярів переважно подовгастої форми. В їх подовгастої форми ядрах наявні еухроматинові та гетерохроматинові ділянки, рибосомальні гранули. Перинуклеарний простір відносно рівномірний. Витончена периферійна ділянка ендотеліоцитів має фенестри, а в цитоплазмі спостерігаються піноцитозні пухирці, окремі мітохондрії, рибосоми.

Наші дані світлової та електронної мікроскопії відповідають даним інших дослідників [9].

У статевозрілих щурів-самців порівняно з статевонезрілими площи ниркових тілець, судинних клубочків, просвітів капсул були більшими на 23,5-24,0%. За даними вчених їх розміри прямо пропорціональні розмірам нирки [10].

Середня площа проксимальних каналців неф-

рона статевозрілих щурів-самців була більшою на 12,7%, а площа їх просвітів була більшою на 25,1%. Середня площа дистальних каналців нефрона була більшою на 13,9%, а площа їх просвітів – на 14,0%.

Висновок. Морфофункціональний стан нирок у статевонезрілих і статевозрілих щурів-самців не має принципових відмінностей. Морфометричні параметри площ ниркових тілець, площ судинних клубочків, площ просвітів капсул, площ проксимальних каналців нефрона та площ їх просвітів, площ дистальних каналців нефрона та площ їх просвітів були статистично значуще більшими при дослідженні нирок статевозрілих щурів порівняно зі статевонезрілими.

Перспективи подальших досліджень. Метою подальших досліджень є встановлення змін структури нирки після нефректомії контралатеральної у статевонезрілих та статевозрілих щурів.

Список використаної літератури

1. Borghese MFA, Ortiz MC, Balonga S, Szokalo RM, Majowicz MP. The role of endothelin system in renal structure and function during the postnatal development of the rat kidney. *PloS one*. 2016 Feb;11(2): e0148866. doi: 10.1371 / journal.pone.0148866
2. Şimşek N, Altunkaynak BZ, Ünal D, Can S, Malkoç I, Ünal B. A stereological and electron microscopic study of the development of the nephron in prenatal and postnatal rats. *The eurAsian journal of medicine*. 2009 Aug;41(2):84-90.
3. Sun MY, Woolley JC, Blohowiak SE, Smith ZR, Siddappa AM, Magness RR, Kling PJ. Dietary-induced gestational iron deficiency inhibits postnatal tissue iron delivery and postpones the cessation of active nephrogenesis in rats. *Reproduction, Fertility and Development*. 2017 Aug;29(5):855-66. Doi: 10.1071 / RD15358
4. Бойчук ТМ, Петришен ОІ. Корегуєчий вплив мелатоніну на функцію морфологічно змінених нирок. *Світ медицини та біології*. 2011;7(2):12-5.
5. Венрюк ЮМ, Роговий ЮЄ, Шумко НМ, Грицюк МІ. Хроноритмічні особливості функцій нирок в інтактних статевозрілих і статевонезрілих щурів за умов гіпо- та гіперфункції шишкоподібної залози. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії*. 2011;11(4-2 (36)):65-70.
6. Холодкова ОЛ, Прус РВ. Морфологічні особливості печінки та нирок статевозрілих та статевонезрілих щурів після модельованої черепно-мозкової травми. *Вісник проблем біології і медицини*. 2017;2(4):160-3.
7. Лихацький ПГ, Фіра ЛС, Фіра ДБ, Кузьмак ІП. Молекулярні механізми метаболічних порушень в органах щурів різного віку, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. *Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина*. 2017;2(8):259-264
8. Тяглова ІЮ, Ситдиқов РІ, Каримова АЗ. Морфологические особенности почки белой крысы. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана*. 2013;216(4), 333-7.
9. Канустяньська АА, Челишвілі АЛ. Морфофункціональна характеристика структурних компонентів ниркового тілця у щурів. *Вісник проблем біології і медицини*. 2016;(2 (2)):134-6.
10. Доржу УВ, Шошенко КА, Беличенко ВМ, Айзман РІ. Онтогенетические изменения структурных показателей почек крыс. *Фундаментальные исследования*. 2014;(12-6):1201-6.

References

1. Borghese MFA, Ortiz MC, Balonga S, Szokalo RM, Majowicz MP. The role of endothelin system in renal structure and function during the postnatal development of the rat kidney. *PloS one*. 2016 Feb;11(2): e0148866. doi: 10.1371 / journal.pone.0148866
2. Şimşek N, Altunkaynak BZ, Ünal D, Can S, Malkoç I, Ünal B. A stereological and electron microscopic

study of the development of the nephron in prenatal and postnatal rats. *The eurasian journal of medicine*. 2009 Aug;41(2):84-90.

3. Sun MY, Woolley JC, Blohowiak SE, Smith ZR, Siddappa AM, Magness RR, et al. Dietary-induced gestational iron deficiency inhibits postnatal tissue iron delivery and postpones the cessation of active nephrogenesis in rats. *Reproduction, Fertility and Development*. 2017 Aug;29(5):855-66. Doi: 10.1071/RD15358

4. Boichuk TM, Petryshen OI. Korehuiuuchy vplyv melatoninu na funktsiiu morfolohichno zminenykh nyrok [Corrective action of melatonin on function of morphologically changing kidneys]. *Svit medytsyny ta biolohii*. 2011;7(2):12-5. (in Ukrainian).

5. Vepriuk YuM, Rohovyi YuIe, Shumko NM, Hrytsiuk MI. Khronorytmichni osoblyvosti funktsii nyrok v intaktnykh statevozirlykh i statevonezrylykh shchuriv za umov hipo- ta hiperfunktsii shyshkopodibnoi zalozy [Chronorhythmic peculiarities of renal functions in intact pubertal and non-pubertal rats under hypo- and hyperfunction of pineal gland]. *Aktualni problemy suchasnoi medytsyny: Visnyk ukrainskoi medychnoi stomatolohichnoi akademii*. 2011;11(4, part 2):65-70. (in Ukrainian).

6. Kholodkova OL, Prus RV. Morfolohichni osoblyvosti pechinky ta nyrok statevozirlykh ta statevonezrylykh shchuriv pislia modelovanoi cherepno-mozkovoї travmy [Morphological features of the liver and kidneys of mature and immature rats after modeled craniocerebral injury]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*. 2017;2(4):160-3. (in Ukrainian).

7. Lykhatskyi PH, Fira LS, Fira DB, Kuzmak IP. Molekuliarni mekhanizmy metabolichnykh porushen v orhanakh shchuriv riznogo viku, urazhenykh natriiu nitrytom na tli tiutiunovoi intoksykatsii [Molecular mechanisms of metabolic disorders in the organs of rats of different ages affected by sodium nitrite in the context of tobacco intoxication]. *Visnyk Dnipropetrovskoho universytetu. Biolohiia, medytsyna*. 2017;2(8):259-64. (in Ukrainian).

8. Tyaglova IYu, Sitdikov RI, Karimova AZ. Morfolohicheskie osobennosti pochki beloї kry`sy [Morphological features of the white rat kidney]. *Ucheny`e zapiski Kazanskoj gosudarstvennoj akademii veterinarnoj medicyny` im. N.E. Baumana*. 2013;216(4):333-7. (in Russian).

9. Kapustianska AA, Chelishvili AL. Morfofunktsionalna kharakterystyka strukturnykh komponentiv nyrovoho tiltsia u shchuriv [Morphofunctional characteristic of structural components of the renal corpuscles in rats]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*. 2016;2(2):134-6. (in Ukrainian).

10. Dorzhu UV, Shoshenko KA, Belichenko VM, Ayzman RI. Ontogeneticheskie izmeneniya strukturnykh pokazateley pochek kryis [The ontogenic changes of the kidney structure parameters at the rats]. *Fundamentalnyie issledovaniya*. 2014;(12-6):1201-6. (in Russian).

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК ПОЛОВОЗРЕЛЫХ И НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ САМЦОВ КРЫС

Резюме. Цель работы. дать характеристику структуры почек у неполовозрелых и половозрелых крыс. Материал и методы. Экспериментальное исследование выполнено на белых нелинейных крысах-самцах, которых разделили на две возрастные группы: неполовозрелые (12 животных) с массой тела 60-80 г, половозрелые (12 животных) с массой тела 180-200 г. Проведено светооптическое, морфометрическое и электронно-микроскопическое исследование почек. Результаты. В половозрелых крыс-самцов по сравнению с неполовозрелыми площади почечных телец, сосудистых клубочков, просветов капсул были большими на 23,5-24,0%. Средняя площадь проксимальных канальцев нефрона половозрелых крыс-самцов была больше на 12,7%, а площадь их просветов была больше на 25,1%. Средняя площадь дистальных канальцев нефрона была больше на 13,9%, а площадь их просветов – на 14,0%. Вывод. Морфофункциональное состояние почек у неполовозрелых и половозрелых крыс-самцов не имеет принципиальных отличий. Морфометрические параметры нефронов и их структурных компонентов были статистически значимо больше при исследовании почек половозрелых крыс по сравнению с неполовозрелыми.

Ключевые слова: почки; структура; ультраструктура; неполовозрелые крысы; половозрелые крысы.

MORPHOFUNCTIONAL STATE OF KIDNEYS OF MATURE AND IMMATURE MALE RATS

Abstract. The objective of the work is to characterize the structure of the kidneys in immature and mature rats. Material and methods. The experimental study was conducted on non-linear albino male rats, which were divided into two groups according to age: immature (12 animals) with their body weight of 60-80 g, mature (12 animals) with their body weight of 180-200 g. Photo-optical, morphometric, and electron-microscopic study of the kidneys was carried out. Results. The area of the renal bodies, vascular glomeruli, capsule lumens were larger by 23.5-24.0% in mature male rats compared with immature. The average area of the proximal

tubules of the nephron of mature male rats was larger by 12.7%, and the area of the lumens was bigger by 25.1%. The average area of the distal tubules of the nephron was 13.9% more, and the area of their lumens – by 14.0%. Conclusion. The morphofunctional state of the kidneys in immature and mature male rats is not fundamentally different. The morphometric parameters of nephrons and their structural components were statistically significantly higher when examining the kidneys of mature rats compared to immature rats.

Key words: kidney, structure, ultrastructure, immature rats, mature rats.

Відомості про авторів:

Півторак Володимир Ізяславович – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри клінічної анатомії та оперативної хірургії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова;

Монастирський Володимир Миколайович – кандидат медичних наук, доцент кафедри хірургії факультету післядипломної освіти Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова;

Булько Ірина Віталіївна – кандидат медичних наук, доцент кафедри анатомії людини Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова.

Information about authors:

Pivtorak Volodymyr I. – MD, PhD, DSci, Professor, Head of Department of Clinical Anatomy and Operative Surgery, National M.I. Pirogov Memorial Medical University;

Monastirskiy Volodymyr M. – MD, PhD, Associate Professor Department Surgery Faculty of Postgraduate Education, National M.I. Pirogov Memorial Medical University;

Bulko Iryna V. – MD, PhD, Associate Professor Department Human Anatomy, National M.I. Pirogov Memorial Medical University.

Надійшла 01.10.2018 р.

Рецензент – проф. Булик Р.С. (Чернівці)