

На правах рукописи

СИДЕЛЬНИКОВ Александр Игоревич

**РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ТКАНЯХ ПОЧЕК ПОСЛЕ
ЧАСТИЧНОЙ НЕФРЭКТОМИИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ
РАССАСЫВАЮЩИХСЯ ШОВНЫХ МАТЕРИАЛОВ**

06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология,
онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ
на соискание ученой степени кандидата
биологических наук

Ставрополь – 2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет»

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор
Квочко Андрей Николаевич

Официальные оппоненты:

Мелешков Сергей Федорович,
доктор ветеринарных наук, доцент,
ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина», заведующий кафедрой диагностики, внутренних незаразных болезней, фармакологии, хирургии и акушерства

Жамбулов Максат Мухтарович,
кандидат биологических наук,
ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет», доцент кафедры морфологии, физиологии и патологии

Ведущая организация:

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный аграрный университет»

Защита состоится 23 декабря 2016 г. в 10:00 часов на заседании диссертационного совета Д 220.062.02 при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» по адресу: 355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12, тел/факс: 8(8652)71-60-57.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» и на официальном сайте организации www.stgau.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2016 г. и размещен на сайтах: ВАК Минобразования и науки РФ <http://www.vak.ed.gov.ru> «___» _____ 2016 г.; ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ» <http://www.stgau.ru> «___» _____ 2016 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Дьяченко Юлия Васильевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность избранной темы и степень ее разработанности.

Изучение процессов регенерации в органах и тканях, в последнее время, является одним из самых актуальных и значимых вопросов в медицине и биологии. Фундаментальным свойством всех живых существ является способность их органов и тканей после повреждений обновлять и восстанавливать нарушенные структуры. Не проходит ни одного патологического процесса, где регенерация не была бы в ключевой составляющей (Т. С. Ёылмаз, 2010).

Значимыми являются исследования, которые касаются детального изучения механизмов регуляции регенераторных процессов в поврежденных органах, так как они указывают направление поиска лекарственных препаратов, которые способствуют ускорению или замедлению этих процессов (И. А. Казакова, 2014).

В настоящее время достаточно полно изучена и описана динамика процессов регенерации в физиологических условиях, при повреждениях и различных патологиях тканей. Проведено разделение регенерации на типы, исследованы видовые, органные, а также тканевые специфики процессов восстановления, дана биохимическая их характеристика (И. А. Казакова, 2014). Однако остаются недостаточно изученными регенеративные процессы на клеточном и субклеточном уровне, в частности после частичной нефрэктомии почек с использованием для ушивания рассасывающихся шовных материалов.

Среди всех закрытых травм внутренних органов, различные повреждения почек составляют в среднем 14,8 % (А. А. Казихинуров, 2001). В последнее время прослеживается тенденция к увеличению заболеваний почек, которые не обходятся без проведения оперативного вмешательства, при этом большой процент осложнений в послеоперационный период, а именно 10 % – после несложных манипуляций и 21 % – после более сложных операций (G. Pareek et al., 2006; А. Н. Квочко с соавт., 2010).

По мнению Э. Р. Мулдашева с соавт. (2009), одной из наиболее сложных проблем современной регенеративной хирургии и урологии является разработка методов не только адекватного заживления ран почек, но и максимально полного восстановления их функциональных структур. В настоящее время эффективных методов по улучшению процессов заживления послеоперационных, травматических и других ран почек (Р. И. Сафиуллин, 2009), восстановления целостности их паренхимы, обеспечивая их нормальное анатомическое строение, а также достижения гемостаза поверхности раневого дефекта еще не разработано (А. А. Казихинуров, 2001; Р. И. Сафиуллин, 2009).

Однако, профессором Э. Р. Мулдашевым с соавт. (1993), разработаны и внедрены в практику специальные виды биоматериалов под названием «Аллоплант», достаточно полно соответствующие данным условиям.

В настоящее время остаются актуальными исследования регенеративных процессов в тканях почек на клеточном и субклеточном уровне, а также в динамике после частичной нефрэктомии, что позволит расширить сведения в

области нефрологии и репаративной хирургии, позволит более детально описать сущность регенеративных процессов, расширит сведения в области развития раневого процесса и даст возможность разработать новые методы по сохранению жизненно важного для организма органа, каким являются почки.

Цель исследования. Изучить регенеративные процессы в тканях почек после частичной нефрэктомии при использовании рассасывающихся шовных материалов.

Задачи исследования:

1. Изучить морфометрические данные структур нефрона в тканях почек после частичной нефрэктомии.

2. Оценить регенеративную способность тканей почек на клеточном и субклеточном уровне после частичной нефрэктомии с применением нитей кетгута и «Аллоплант» для ушивания операционной раны.

3. Изучить динамику параметров зон ядрышковых организаторов в клетках почечных канальцев и почечных телец после частичной нефрэктомии с использованием для закрытия операционной раны нитей кетгута и «Аллоплант».

4. Определить плотность распределения ДНК в клетках почечных канальцев и почечных телец после частичной нефрэктомии.

5. Оценить пролиферативную активность клеток почечных канальцев и почечных телец после частичной нефрэктомии по экспрессии белка Ki-67.

Научная новизна. В эксперименте на кроликах на клеточном и субклеточном уровне проведено сравнительное исследование влияния рассасывающихся шовных материалов (нить кетгута и нить «Аллоплант») на регенеративные процессы в тканях почек после частичной нефрэктомии. Представлены сведения по динамике изменения структур нефрона в разные сроки после частичной нефрэктомии с применением для закрытия операционной раны нитей кетгута и «Аллоплант». Впервые описаны параметры ядрышковых организаторов в ядрах клеток структур нефрона в зависимости от шовного материала, использованного для закрытия операционной раны почки (нить кетгута и нить «Аллоплант»). Оценена пролиферативная активность клеток почечных канальцев и почечных телец после частичной нефрэктомии по экспрессии белка Ki-67 и описана динамика изменения плотности распределения ДНК в них.

Теоретическая и практическая ценность работы. Результаты исследований создают теоретическую базу для усовершенствования диагностики и лечения животных с патологией почек, а также позволяют более глубоко понять биологические процессы, происходящие в организме после частичной нефрэктомии с применением для закрытия операционной раны нитей кетгута и «Аллоплант». Они расширяют сведения о репаративных процессах в тканях почек после частичной нефрэктомии, с применением для закрытия операционного дефекта рассасывающихся шовных материалов, а также позволяют глубже понять процесс регенерации в тканях этого органа при повреждениях. Полученные сведения обосновывают возможность

использования нити «Аллоплант» в ветеринарной хирургии для сохранения жизненно важного органа мочевыделительной системы. Полученные данные могут быть использованы в научных целях, при составлении учебных и справочных пособий, чтении лекций и проведении занятий по морфологии, патофизиологии и ветеринарной хирургии в учебных заведениях биологического профиля.

Методология и методы исследования. Методологической основой проведенных исследований является изучение влияния рассасывающихся шовных материалов на течение регенеративных процессов в тканях почек после частичной нефрэктомии. Результаты исследований получены с использованием гистологических, гистохимических, иммуногистохимических, морфометрических и статистических методов исследований. Особенностью работы является обоснование использования рассасывающихся шовных материалов с целью сохранения и восстановления не только функции, но структуры почек.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Особенность динамики изменения морфометрических показателей структур нефрона после частичной нефрэктомии обусловлена влиянием применяемого шовного материала.

2. Применение нити «Аллоплант» способствует более ранней активации регенеративных процессов в тканях почек на клеточном и субклеточном уровне и восстановлению поврежденных структур нефрона, по сравнению с нитью кетгута.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность проведенных исследований основана на том, что все гистологические, гистохимические, иммуногистохимические и морфометрические данные получены с использованием современных методов на сертифицированном оборудовании с последующей статистической обработкой.

Основные результаты научных исследований вошли в отчеты по научно-исследовательской работе ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» за 2013-2016 годы. Основные положения диссертации были доложены, обсуждены и получили положительную оценку на научных конференциях профессорско-преподавательского состава ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ» (2013-2016 гг.). На Всероссийском конкурсе на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых ВУЗов МСХ РФ (г. Махачкала, 2015). На международной научно-практической конференции «Современные проблемы гуманитарных и естественных наук» (г. Москва, 2016). На международной научной конференции «Теория и практика современной науки» (г. Москва, 2016).

Материалы исследований используются в учебном процессе и научных исследованиях в ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», Аграрно-технологический

институт ФГАОУ ВО РУДН, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет», ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет», ФГБОУ ВО «Самарская государственная сельскохозяйственная академия», УО «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины», ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П. А. Столыпина», ФГБОУ ВО «Алтайский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия имени П. А. Столыпина», ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина», ФГБОУ ВО «Горский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Курганская государственная академия имени Т. С. Мальцева», ФГБОУ ВО «Ивановская государственная сельскохозяйственная академия», ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет».

Личный вклад соискателя. Все гистологические, гистохимические, иммуногистохимические и морфометрические исследования, а также статистическая обработка полученных результатов проведены непосредственно автором. Доля участия соискателя при выполнении работы составляет 85 %.

Публикация. По материалам исследований опубликовано 7 научных статей, в которых отражены основные положения и выводы по теме диссертации, в том числе 3 научные статьи в изданиях, включенных в Перечень Российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций («Вестник АПК Ставрополья», «Вестник КрасГАУ», «Вестник Алтайского государственного аграрного университета»). Получено 2 патента на изобретение.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 189 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения и списка литературы. Работа иллюстрирована 16 таблицами и 79 рисунками. Список литературы содержит 310 источников, в том числе 130 зарубежных.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе изложены данные научной литературы по морфологическому строению почек млекопитающих, по вопросу репаративной регенерации в тканях и органах млекопитающих в норме и при повреждениях, адаптации тканевых элементов к процессам биодegradации при использовании в хирургии шовных материалов, представлены сведения по процессам регенерации в тканях почек, а также оценке пролиферативного потенциала клеток.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

При выполнении диссертационной работы нами была изучена динамика изменения морфометрических показателей структур нефрона, и особенности регенеративных процессов в тканях почек кроликов после частичной

нефрэктомии, с последующим ушиванием операционной раны нитью кетгута и нитью «Аллоплант» в разные сроки взятия материала и в зависимости от расстояния до зоны повреждения органа (в зоне близкой к рубцу или вдали от нее).

2.1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены с 2013 по 2016 гг. в условиях клиники кафедры физиологии, хирургии и акушерства, научно-диагностическом и лечебном ветеринарном центре ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет».

Объектом исследования служили самцы кроликов породы шиншилла в возрасте 6-7 месяцев и массой тела 3-3,5 кг, которых содержали в условиях вивария с ежедневной обработкой клеток.

В эксперименте было использовано 36 кроликов, разделенных на 2 группы по 18 животных. В 1-й опытной группе для ушивания раны почки использовали шовный материал кетгут (HELM, Германия), во 2-й – «Аллоплант» (ФГУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», г. Уфа). Все манипуляции с животными осуществлялись в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях.

Оперативное вмешательство было проведено с соблюдением правил асептики и антисептики, под общим наркозом с применением фармакологического препарата «Золетил» (6,6 мг/кг массы тела).

Животных фиксировали на операционном столе в боковом положении, в области предполагаемого разреза проводили удаление волосяного покрова путем выбривания, с двукратной обработкой операционного поля по методу Филончикова-Гроссиха 5,0 % спиртовым раствором йода.

Доступом к правой почке является разрез кожи в дорсо-вентральном направлении, параллельно реберной дуге согласно запатентованной нами методике (В. И. Трухачев с соавт., 2014).

В области ворот почки накладывали гемостатический зажим с целью профилактики кровотечения.

Проводили декапсуляцию почки – разрез осуществляли у каудального полюса почки. Далее выполнили глубокое V-образное иссечение паренхимы почки.

На совмещенные края накладывали узловатый шов из соответствующего шовного материала (нить кетгута или нить «Аллоплант») по методу А. Г. Глухарева с соавт. (1986).

Брюшину, мышцы и фасции брюшной стенки ушивали непрерывным швом Ревердена, на кожу накладывали узловатый шов. В качестве шовного материала для ушивания операционной раны почки и брюшной стенки в 1-й опытной группе использовали нить кетгута, а во 2-й группе нить «Аллоплант».

Послеоперационный период включал в себя: учет температуры тела, ход заживления операционной раны на коже.

У животных экспериментальных групп во время операции, на 3-и, 6-е, 12-е, 18-е и 60-е сутки после выполнения правосторонней частичной нефрэктомии проводили отбор кусочков почек в области наложения шва для гистологических, гистохимических и иммуногистохимических исследований.

Материал, взятый для гистологических исследований (n=36), фиксировали в 10 %-ном забуференном формалине, проводили через спирты возрастающей крепости и ксилол, и заливали в гистологическую среду «Гистомикс» с использованием гистологического процессора замкнутого типа Tissue-Tek VIP™ 5 Jr. производства Sakura (Япония).

Для обзорных целей гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином (В. В. Семченко с соавт., 2006), для выявления коллагеновых волокон – трихромом по Массону.

На гистологических препаратах определяли: площадь канальцевых эпителиоцитов и их ядер, рассчитывали ядерно-цитоплазматическое отношение; площадь сосудистых клубочков, площадь почечных телец; внутреннюю площадь просвета проксимальных и дистальных почечных канальцев; толщину коллагеновых волокон в зоне рубца почки, площадь ядер, количество и суммарная площадь АгЯО в клетках почечных канальцев и клеток почечных телец в зоне близкой к рубцу и вдали от нее.

С каждого препарата выполняли по 10 снимков (в формате .jpg, размером 3136×2352 пикселей в палитре 24 бит) в области близкой к рубцу и вдали от нее в случайно выбранных полях зрения при увеличении × 40, × 100, × 200, × 400 и × 1000.

Гистохимические исследования были направлены на выявление кислых и нейтральных биополимеров, гликогена, окрашенных PAS-реакцией с альциановым синим при рН-2,5 («Bio-Optica», Италия), ядрышковых организаторов (ОЯОР) (В. И. Турилова с соавт., 1998), а также определение плотности распределения ДНК в ядрах клеток структур нефрона (Э. Пирс, 1962).

Для изучения плотности распределения ДНК в тканях почек гистосрезы окрашивали раствором акридинового оранжевого (ПанЭко, Россия) в соотношении 1:20000, в забуференном 0,9 % растворе хлорида натрия (Э. Пирс, 1962). Микроскопию полученных препаратов проводили на люминесцентном микроскопе Olympus VX41 (Япония) в синем свете. При этом наблюдалось свечение ДНК зеленым светом. С каждого препарата выполняли по 10 снимков (в формате .jpg, размером 3136×2352 пикселей в палитре 24 бит) в области близкой к рубцу и вдали от нее в случайно выбранных полях зрения при увеличении × 1000.

Для идентификации пролиферирующих клеток было проведено иммуногистохимическое окрашивание на белок Ki-67. В исследовании использовались моноклональные мышинные антитела Ki-67 (клон М1В-1, 1:500, Dako, Дания).

Микроскопию срезов проводили с помощью светового микроскопа OLYMPUS-BX 43 (Япония), люминесцентного микроскопа Olympus BX41 (Япония) и фотоаппарата OLYMPUS C 300 (Япония).

Морфометрические исследования проводили с использованием программы VideoTesTMaster 4.0 для Windows.

Статистическую обработку полученных числовых показателей проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа и критерия Ньюмена-Кейлса в программе PrimerofBiostatics 4.03 для Windows. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ

В данном разделе изложены результаты научных исследований, опубликованные в научных статьях, как самостоятельно, так и в соавторстве, они уточнены, расширены и содержат новые сведения.

2.2.1. Параметры почечных телец кроликов в норме и после частичной нефрэктомии

Установлено, что в тканях почек, отобранных во время выполнения частичной нефрэктомии, соотношение площади сосудистого клубочка к площади почечного тельца составляет $0,82 \pm 0,02$.

Отношение площади сосудистого клубочка к площади почечного тельца к 3-м суткам достоверно ($p < 0,05$) уменьшается при использовании нити кетгута на 36,59 % в зоне близкой к рубцу и на 29,27 % вдали от нее, а при использовании нити «Аллоплант» – на 26,83 % и 12,20 % соответственно.

С 3-х по 6-е сутки значения данного параметра достоверно ($p < 0,05$) изменяются лишь вдали от рубца при использовании нити кетгута – увеличиваются на 13,43 %.

К 12-м суткам наблюдается достоверное ($p < 0,05$) увеличение вдали от рубца при применении нити «Аллоплант» на 8,97 %.

К 15-м суткам достоверное ($p < 0,05$) изменение отмечено лишь в зоне близкой к рубцу в почках, где применяли нить «Аллоплант» (увеличение на 18,42 %).

К 18-м суткам отношение площади сосудистого клубочка к площади почечного тельца достоверно ($p < 0,05$) уменьшается в почках, которые ушиты нитью «Аллоплант» на 11,84 % в зоне близкой к рубцу и на 11,39 % вдали от нее, а при использовании нити кетгута – достоверно ($p < 0,05$) увеличивается на 15,35 % только в зоне близкой к рубцу.

К 60-м суткам данное отношение достоверно ($p < 0,05$) уменьшается в почках, где применяли нить кетгута на 12,31 % в зоне близкой к рубцу и на 12,0% вдали от нее, а при использовании нити «Аллоплант» – достоверно ($p < 0,05$) увеличивается только вдали от рубца на 9,09 %.

Сравнивая данные между зонами исследования, установлено, что на 3-и сутки после частичной нефрэктомии отношение площади сосудистого клубочка к площади почечного тельца вдали от рубца достоверно ($p < 0,05$) отличается

только в почках, где применяли нить «Аллоплант» (больше на 16,67 %, по сравнению с зоной близкой к рубцу).

На 6-е сутки значения данного параметра вдали от рубца достоверно ($p<0,05$) больше, по сравнению с зоной близкой к рубцу, как при использовании нити кетгута, так и нити «Аллоплант» на 20,90 % и 14,08 % соответственно.

На 12-е сутки отношение площади сосудистого клубочка к площади почечного тельца вдали от рубца достоверно ($p<0,05$) больше, чем в зоне близкой к нему, в почках с применением нити кетгута на 21,43 %, а с применением нити «Аллоплант» – на 20,51 %.

На 15-е и 18-е сутки значения исследуемого параметра вдали от рубца достоверно ($p<0,05$) отличаются от данных в зоне близкой к рубцу только в почках, операционная рана которых была ушита нитью кетгута – больше на 26,67 % и 13,33 % соответственно.

На 60-е сутки после нефрэктомии значения данного параметра вдали от рубца достоверно ($p<0,05$) больше, по сравнению с зоной близкой к рубцу, как при использовании нити кетгута, так и нити «Аллоплант» на 13,64 % и 15,58 % соответственно.

Таким образом, использование для ушивания операционной раны почки после частичной нефрэктомии нити «Аллоплант» сопровождается менее выраженными изменениями морфометрических параметров структур почечных телец в зоне близкой к операционному рубцу и вдали от него в отличие от применения для закрытия дефекта нити кетгута. По нашему мнению, это связано с менее выраженными процессами повреждения почки и этого отдела нефрона, что подтверждается исследованиями В. Н. Павлова с соавт. (2014).

2.2.2. Параметры канальцевой системы почек у кроликов после частичной нефрэктомии

При изучении параметров проксимальных и дистальных канальцев почек в послеоперационном периоде после частичной нефрэктомии установлено, что к 3-м суткам площадь просвета проксимальных почечных канальцев достоверно ($p<0,05$) больше только вдали от рубца на 51,72 % в почках, где применяли нить кетгута. К 18-м суткам значения данного параметра достоверно ($p<0,05$) меньше только в зоне близкой к рубцу (на 49,32 %) в почках, операционная рана которых ушита нитью кетгута. На 60-е сутки площадь просвета проксимальных почечных канальцев достоверно ($p<0,05$) больше в зоне близкой к рубцу, как при использовании нити кетгута, так и нити «Аллоплант» на 48,74 % и 48,11 % соответственно.

При сравнении одной и той же зоны исследования экспериментальных групп установлено, что площадь просвета проксимальных почечных канальцев в почках, где применяли нить «Аллоплант» достоверно ($p<0,05$) отличается только на 15-е сутки в зоне близкой к рубцу (меньше на 48,44 %), по сравнению с применением нити кетгута.

При анализе значений средней площади просвета дистальных почечных канальцев установлено, что при сравнении с данными, полученными в

материале, отобранном во время операции ($220,60 \pm 16,67$ мкм²), к 3-м суткам после нее достоверное ($p < 0,05$) изменение отмечено только вдали от рубца в почках, где применяли нить «Аллоплант» (увеличение на 45,81 %). К 15-м суткам достоверное ($p < 0,05$) изменение отмечено лишь вдали от рубца в почках с применением для закрытия ее дефекта нити кетгута (увеличение на 26,41 %). С 15-х по 18-е сутки установлено достоверное ($p < 0,05$) снижение средней площади просвета дистальных почечных канальцев в почках, ушитых нитью кетгута, как в зоне близкой к рубцу, так и вдали от нее на 41,39 % и 29,79 % соответственно. К 60-м суткам установлено достоверное ($p < 0,05$) повышение данного параметра в почках при использовании нити кетгута как в зоне близкой к рубцу, так и вдали от нее на 54,91 % и 33,20 %, при этом в почках ушитых нитью «Аллоплант» также отмечено достоверное ($p < 0,05$) увеличение на 39,03% и 28,28 % соответственно.

При сравнении одной и той же зоны исследования 1-й и 2-й групп установлено, что на 3-и сутки значения средней площади просвета дистальных почечных канальцев при использовании нити «Аллоплант» достоверно ($p < 0,05$) больше на 31,74 % по сравнению с этой же зоной, где применяли нить кетгута.

Сравнивая данные между зонами исследования, установлено, что на 3-и сутки средняя площадь просвета дистальных почечных канальцев достоверно ($p < 0,05$) отличаются только вдали от рубца в почках, где применяли нить «Аллоплант» на 28,57 %. На 60-е сутки достоверные ($p < 0,05$) отличия отмечены только в почках, где применяли нить кетгута – меньше на 16,99 % вдали от рубца.

Таким образом, в результате исследований установлено, что площадь просвета проксимальных и дистальных почечных канальцев зависит от времени, прошедшего после выполнения операции, применяемого для закрытия дефекта шовного материала (нитей кетгута или «Аллоплант») и зоны повреждения органа (в зоне близкой к рубцу или вдали от нее). По нашему мнению, изменение морфометрических параметров канальцевой системы сказывается на тубулярном транспорте и реабсорбции веществ. Значительное увеличение площади просвета в канальцах с 3-х по 60-е сутки, по нашему мнению, может рассматриваться как компенсаторная реакция на повреждение паренхимы органа после частичной нефрэктомии. Подобные результаты были получены в исследованиях С. И. Анохина и В. Н. Горчакова (2001).

2.2.3. Метаболическая активность клеток почечных канальцев у кроликов после частичной нефрэктомии

Установлено, что в клетках проксимальных канальцев ЯЦО при отборе материала во время операции было $0,15 \pm 0,003$, а к 3-м суткам достоверно ($p < 0,05$) увеличивается у животных, которым рану ушивали нитью «Аллоплант» на 21,05 % в зоне близкой к рубцу и на 6,25 % вдали от нее. Значения этого показателя в группе, где применяли нить кетгута достоверно ($p < 0,05$) уменьшается только в зоне отдаленной от рубца (на 20,0 %). К 6-м суткам при использовании нити кетгута значения ЯЦО достоверно ($p < 0,05$)

изменяются лишь в проксимальных канальцах удаленных от рубца – увеличиваются на 14,29 %. На 12-е сутки ЯЦО в проксимальных канальцах достоверно ($p<0,05$) увеличилось в почках, где применяли нить «Аллоплант» на 15,0 % в зоне близкой к рубцу и на 5,88 % вдали от нее. При использовании нити кетгута параметры этого показателя достоверно ($p<0,05$) уменьшились на 6,25 % в зоне близкой к рубцу. К 15-м суткам после операции отмечено достоверное ($p<0,05$) снижение значений данного параметра в почках, ушитых нитью «Аллоплант», на 20,0 % в зоне близкой к рубцу и на 11,76 % вдали от нее, при этом, в почках ушитых нитью кетгута, наблюдали достоверное ($p<0,05$) повышение параметров этого показателя только вдали от рубца (на 13,33 %). На 18-е сутки установлено достоверное ($p<0,05$) повышение ЯЦО при использовании нити «Аллоплант» на 11,11 % в зоне близкой к рубцу и на 6,25% вдали от нее, а при использовании нити кетгута – достоверное ($p<0,05$) снижение на 13,33 % вдали от рубца и повышение на 31,82 % в зоне близкой к рубцу. С 18-х по 60-е сутки значения данного показателя достоверно ($p<0,05$) повышаются в почках ушитых нитью кетгута на 15,38 % в зоне близкой к рубцу и на 31,58 % вдали от нее, а при использовании нити «Аллоплант» они увеличились только в зоне близкой к рубцу (на 10,0 %).

Сравнивая данные между зонами исследования, установлено, что после частичной нефрэктомии на 3-и сутки ЯЦО в проксимальных канальцах вдали от рубца достоверно ($p<0,05$) меньше, как при использовании нити кетгута, так и нити «Аллоплант» на 25,0 % и 15,80 % соответственно, по сравнению с зоной близкой к рубцу. На 6-е сутки значения данного параметра вдали от рубца достоверно ($p<0,05$) меньше, чем в зоне близкой к рубцу на 12,50 % в почках, где применяли нить кетгута, а в почках, где использовали нить «Аллоплант» – на 5,88 %. На 12-е сутки достоверные ($p<0,05$) изменения значений данного параметра отмечены лишь при использовании нити «Аллоплант» – вдали от рубца они ниже, чем в зоне близкой к рубцу (на 15,0 %).

На 18-е сутки значения исследуемого параметра в проксимальных канальцах вдали от рубца достоверно ($p<0,05$) меньше, как при использовании нити кетгута (на 40,91 %), так и нити «Аллоплант» (на 11,11 %), по сравнению с данными в зоне близкой к рубцу. На 60-е сутки на 26,92 % ЯЦО в проксимальных канальцах вдали от рубца достоверно ($p<0,05$) меньше, чем в зоне близкой к рубцу в почках, где применяли нить кетгута, а в почках с применением нити «Аллоплант» – на 15,0 %.

При анализе ЯЦО в клетках дистальных канальцев почек установлено, что при сравнении с данными в материале, отобранном во время операции ($0,18\pm 0,004$), к 3-м суткам достоверное ($p<0,05$) изменение было только в зоне близкой к рубцу при использовании нити кетгута (больше на 10,0 %). На 6-е сутки отмечено достоверное ($p<0,05$) повышение данного показателя только при использовании нити кетгута, как в зоне близкой к рубцу (на 9,09 %), так вдали от нее (на 20,0 %). С 12-х по 18-е сутки отмечено достоверное ($p<0,05$) понижение данного параметра в дистальных канальцах при использовании нити кетгута на 18,18 % в зоне близкой к рубцу и на 10,53 % вдали от нее, а при

использовании нити «Аллоплант» только в зоне близкой к рубцу (на 18,18 %). К 18-м суткам достоверное ($p<0,05$) изменение отмечено лишь в зоне близкой к рубцу в почках ушитых нитью «Аллоплант» – снижение ЯЦО на 35,71 %. К 60-м суткам значения данного параметра в клетках дистальных канальцев почек ушитых нитью кетгута достоверно ($p<0,05$) понижаются в зоне близкой к рубцу на 17,86 % и повышаются на 19,05 % вдали от нее, а при использовании нити «Аллоплант» достоверно ($p<0,05$) повышаются только в зоне близкой к рубцу на 14,29 %.

Сравнивая данные между зонами исследования, установлено, что на 3-и сутки достоверные ($p<0,05$) отличия значений ЯЦО в клетках дистальных канальцев были только в почках ушитых нитью кетгута вдали от рубца (меньше на 20,0 %), по сравнению со значениями этого параметра в зоне близкой к рубцу. На 6-е сутки значения данного параметра вдали от рубца достоверно ($p<0,05$) меньше, чем в зоне близкой к рубцу в почках, где применяли нить кетгута на 9,09 %, а в почках, где применяли нить «Аллоплант» – на 9,52 %. На 12-е сутки ЯЦО в дистальных канальцах вдали от рубца достоверно ($p<0,05$) меньше, как при использовании нити кетгута, так и нити «Аллоплант» на 13,64% и 18,18 % соответственно, по сравнению со значениями зоны близкой к рубцу. На 18-е и 60-е сутки достоверные ($p<0,05$) отличия значений исследуемого параметра были только вдали от рубца в почках, где применяли нить кетгута меньше на 39,29 % и 8,70 % соответственно, по сравнению с данными в зоне близкой к рубцу.

Таким образом, при использовании нити «Аллоплант» в эпителиоцитах проксимальных канальцев увеличение ЯЦО указывает на повышение функциональной активности клетки, о чем также свидетельствуют исследования К. Ташкэ (1980). При использовании нити кетгута, повышение метаболической активности в зоне близкой к рубцу регистрируется только к 18-м суткам, что указывает на более длительный процесс восстановления клеток в ответ на повреждение и подтверждается в исследованиях Е. А. Попп с соавт. (2014), при этом, вдали от зоны рубца ЯЦО, снижаясь на 3-и сутки, остается на пониженном уровне до 18-х суток, с последующим значительным повышением на 60-е сутки. Вероятно, это связано с хронически протекающим воспалительным процессом и дистрофией клеток.

В дистальных канальцах почек, ушитых нитью «Аллоплант», значения ЯЦО постепенно повышаются к 12-м суткам, стабилизируются к 15-м и незначительно повышаются к 60-м суткам. При использовании нити кетгута в зоне рубца отмечается повышение ЯЦО эпителиоцитов дистальных канальцев с 3-х по 12-е сутки с последующей стабилизацией к 15-м суткам и значительным увеличением на 18-е сутки. Далее отмечается снижение ЯЦО к 60-м суткам, что, по нашему, мнению свидетельствует о течении регенеративных процессов, однако они усугубляются развитием воспалительной реакции на имплантацию нити кетгута. По нашему мнению, такая динамика связана с развитием серозного отека и дистрофии в этой части нефрона.

2.2.4. Регенеративные процессы в тканях почек при ушивании их операционной раны нитью кетгута

При использовании для закрытия операционной раны почек нити кетгута, на 3-и сутки отмечается воспалительная реакция с преобладанием процессов альтерации с развитием вакуольной дистрофии эпителиоцитов канальцев. Повсеместно отмечаются гиперемия, тромбоз сосудов и единичные кровоизлияния.

На 6-е сутки процесс некроза паренхимы почки продолжается. Вокруг нити кетгута формируется соединительнотканная капсула с лейкоцитарным инфильтратом. Отмечается склеротизация интерстициальной ткани.

На 12-е и 15-е сутки имеет место развитие коллагеноза канальцевой системы.

На 18-е сутки в зоне близкой к рубцу выявлен тотальный некроз и разрастание коллагеновых волокон.

60-е сутки характеризуются тем, что в зоне повреждения образуется массивный рубец, мощная соединительнотканная капсула вокруг нити кетгута. Канальцы расширены, деформированы, почечные тельца в состоянии отека. Начинается процесс регенерации канальцев.

2.2.5. Регенеративные процессы в тканях почек при ушивании их операционной раны нитью «Аллоплант»

При использовании нити «Аллоплант» гистологическая картина на 3-и сутки сходна с картиной при использовании нити кетгута, однако отмечается выпадение фибрина с прорастанием в него кровеносных сосудов. Наблюдается появление в зоне близкой к рубцу клеток фибробластического ряда.

К 6-м суткам шовный материал подвергается биодеструкции, в зоне близкой к рубцу происходит замещение фибрина соединительной тканью, и начинается неоваскулогенез. Почечные тельца частично сохранены.

С 12-х по 15-е сутки в соединительную ткань прорастают кровеносные сосуды. На 18-е сутки нить «Аллоплант» расслаивается, наблюдается регенерация канальцев.

На 60-е сутки в почках регенерация сосудов и канальцев отмечается по периметру всей зоны повреждения. Раневой канал закрыт рубцом.

Таким образом, уже на 18-е сутки отмечаются более выраженные процессы регенерации канальцев при использовании нити «Аллоплант», по сравнению с использованием нити кетгута. Это связано со слабо выраженной иммунной ответной реакцией тканей почек и организма в целом на имплантацию шовного материала «Аллоплант», что подтверждено исследованиями Е. В. Шаламовой и А. Н. Квочко (2010) динамики иммунологических показателей после частичной нефрэктомии почек кроликов.

2.2.6. Развитие коллагеновых волокон в рубце почек кроликов после частичной нефрэктомии при использовании нити кетгута и нити «Аллоплант»

При изучении динамики развития коллагеновых волокон в операционном рубце почки у кроликов после частичной нефрэктомии, установлено, что в зависимости от времени после проведения операции, а также вида используемого шовного материала (кетгут или «Аллоплант»), средние значения толщины коллагеновых волокон различаются (таблица 1).

Таблица 1 – Толщина коллагеновых волокон в зоне повреждения тканей почки после частичной нефрэктомии, мкм

Сроки взятия материала	Кетгут, М±m (n=180)	Аллоплант, М±m (n=180)
3 сутки	34,20±2,04	19,07±0,83 [#]
6 сутки	37,98±1,89	32,38±2,48 [*]
12 сутки	74,66±3,68 [*]	44,61±2,05 [#]
15 сутки	121,40±3,68 [*]	51,40±1,90 [#]
18 сутки	123,70±3,53	55,85±2,73 [#]
60 сутки	142,40±9,44 [*]	69,48±2,18 ^{*#}

Примечание: статистическая значимость различий с более ранним сроком взятия материала:

* – $p < 0,05$; между шовными материалами одного срока взятия материала: # – $p < 0,05$.

Таким образом, приведенные в предыдущих разделах сведения о динамике гистологических изменений при применении нитей кетгута и «Аллоплант» для ушивания операционной раны почки после частичной нефрэктомии и изложенные в данном разделе работы в полной мере согласуются с мнением профессора Э. Р. Мулдашева с соавт. (2001) по интенсивности процесса заживления при использовании нити «Аллоплант».

2.2.7. Параметры зон ядрышковых организаторов клеток почек после частичной нефрэктомии при использовании нити кетгута и нити «Аллоплант»

При анализе количества АгЯО в ядрах клеток почечных канальцев установлено, что в материале, отобранном во время операции, обнаруживалось в среднем $1,86 \pm 0,04$. К 3-м суткам значения этого параметра достоверно ($p < 0,05$) повышаются во всех зонах исследования, как при использовании нити кетгута, так и нити «Аллоплант» – в зоне близкой к рубцу на 15,07 % и 31,87 %, вдали от рубца – на 12,68 % и 13,49 % соответственно. На 6-е сутки отмечено достоверное ($p < 0,05$) снижение данного параметра в почках, где применяли нить «Аллоплант», в зоне близкой к рубцу на 11,72 % и вдали от нее – на 13,49%, а при использовании нити кетгута только вдали от рубца на 11,74 %. К 12-м суткам достоверное ($p < 0,05$) снижение количества АгЯО (на 12,86 %) отмечено лишь при использовании нити «Аллоплант» в зоне близкой к рубцу. С 15-х по 18-е сутки количество АгЯО в почках с применением нити кетгута достоверно ($p < 0,05$) снизилось в зоне близкой к рубцу на 11,50 %, а вдали от

нее – на 19,14 %, при этом в почках, ушитых нитью «Аллоплант», значения этого параметра достоверно ($p < 0,05$) увеличились на 11,74 % и 12,56 %. К 60-м суткам, по сравнению с предыдущим сроком взятия материала, количество AgЯО в почках ушитых нитью кетгута достоверно ($p < 0,05$) возросло как в зоне близкой к рубцу (на 17,89 %), так и вдали от нее (на 16,34 %), а при использовании нити «Аллоплант» значения данного параметра достоверно ($p < 0,05$) снизились в зоне близкой к рубцу (на 16,96 %).

Сравнивая данные между зонами исследования, установлено, что в почках с применением нити кетгута отмечены достоверно ($p < 0,05$) меньшие значения количества AgЯО в ядрах клеток почечных канальцев вдали от рубца только на 6-е (на 16,44 %), 12-е (на 16,95 %) и 18-е (на 15,50 %) сутки. При использовании нити «Аллоплант» количество AgЯО остается достоверно ($p < 0,05$) меньшим вдали от рубца на 3-и (на 21,25 %), 6-е (на 22,82 %), 12-е (на 14,29 %), 15-е (на 10,84 %) и 18-е (на 10,0 %) сутки в сравнении с данными в зоне близкой к рубцу.

Средняя суммарная площадь AgЯО в ядрах клеток почечных канальцев в материале, отобранном во время операции составила $2,00 \pm 0,06$ мкм². На 3-и сутки она достоверно ($p < 0,05$) увеличивается при использовании нити кетгута – в зоне близкой к рубцу на 52,83 % и вдали от нее – на 48,32 %, а в почках, ушитых нитью «Аллоплант» – на 74,23 % и 29,82 %, соответственно. С 3-х по 6-е сутки в почках, где использовали нить «Аллоплант», отмечено достоверное ($p < 0,05$) снижение этого параметра в зоне близкой к рубцу на 24,16 %, а вдали от нее – на 15,44 %, при этом, в почках, ушитых нитью кетгута, отмечено достоверное ($p < 0,05$) повышение в зоне близкой к рубцу на 9,01 %. На 12-е сутки установлено достоверное ($p < 0,05$) снижение суммарной площади AgЯО в ядрах клеток почек, ушитых нитью кетгута, в зоне близкой к рубцу на 13,09 %, а при использовании нити «Аллоплант» – в зоне близкой к рубцу и вдали от нее на 15,24 % и 15,35 % соответственно. На 15-е сутки достоверные ($p < 0,05$) различия, по сравнению с 12-ми сутками, отмечены только вдали от зоны рубца в почках, операционная рана которых ушита нитью кетгута и нитью «Аллоплант», – снижение на 13,33 % и повышение на 16,05 % соответственно. На 18-е сутки после проведения операции в зоне близкой к рубцу с использованием нити кетгута отмечено достоверное ($p < 0,05$) снижение суммарной площади AgЯО на 12,72 %, а при использовании нити «Аллоплант» в этой же зоне – повышение на 22,49 %. К 60-м суткам суммарная площадь AgЯО достоверно ($p < 0,05$) снизилась как в почках с использованием нити кетгута, так и нити «Аллоплант» – в зоне близкой к рубцу на 24,78 % и 51,06 %, а вдали от рубца – на 29,68 % и 43,13 % соответственно.

При сравнении данных между зонами исследования на 3-и сутки при использовании нити «Аллоплант» этот параметр достоверно ($p < 0,05$) меньше вдали от рубца на 40,13 %. На 6-е сутки при использовании нити кетгута и нити «Аллоплант» отмечено, что вдали от рубца суммарная площадь AgЯО достоверно ($p < 0,05$) меньше на 20,82 % и 33,24 % соответственно. На 12-е сутки в почках, ушитых нитью кетгута и нитью «Аллоплант», значения данного

параметра достоверно ($p < 0,05$) ниже на 14,81 % и 33,33 % соответственно вдали от рубца. На 15-е сутки при использовании нити кетгута суммарная площадь AgЯО вдали от рубца достоверно ($p < 0,05$) меньше на 23,92 %, а при использовании нити «Аллоплант» в этой же зоне исследования достоверно меньше на 17,06 % по сравнению с зоной близкой к рубцу. На 18-е сутки после частичной нефрэктомии в почках, ушитых нитью кетгута и нитью «Аллоплант», значения данного параметра вдали от рубца достоверно ($p < 0,05$) меньше, чем в зоне близкой к рубцу, на 17,49 % и 30,69 %. На 60-е сутки после операции с использованием нити кетгута суммарная площадь AgЯО ядрах почечных канальцев вдали от рубца, в отличие от зоны близкой к рубцу, достоверно ($p < 0,05$) меньше на 22,87 %, а в почках с использованием нити «Аллоплант» достоверно ($p < 0,05$) меньше на 19,46 %.

Полученные результаты указывают на активацию регенеративных процессов в почках на 3-и сутки, однако в зоне близкой к рубцу при использовании кетгута максимальные значения отмечены лишь на 6-е сутки. В почках ушитых кетгутом суммарная площадь AgЯО, достигая максимального значения, начинает постепенно снижаться во всех зонах исследования вплоть до 60-х суток. По нашему мнению, это свидетельствует о затяжном регенеративном процессе. В почках ушитых нитью «Аллоплант» максимальное повышение суммарной площади AgЯО зафиксировано на 3-и и 18-е сутки исследования. По нашему мнению, такое изменение суммарной площади AgЯО свидетельствует об активации регенеративного процесса уже на 3-и сутки, и подготовке клеток к следующему делению на 18-е сутки.

Полученные нами данные по количеству AgЯО в ядрах клеток почек после частичной нефрэктомии совпадают с изменениями суммарной площади AgЯО. Волнообразные колебания количества AgЯО в ядрах клеток почек кроликов видимо, обусловлены способностью ядрышковых организаторов разных хромосом сливаться при новообразовании ядрышек в процессе деления в одну общую структуру. Подобные результаты были получены в исследованиях Ю. С. Ченцова (2004).

2.2.8. Плотность распределения ДНК в ядрах клеток структур нефрона

При сопоставлении данных по оптической плотности ядер эпителиоцитов канальцев (таблица 2) с данными более раннего срока отбора материала установлено, что к 3-м суткам значения данного параметра достоверно ($p < 0,05$) повышаются как в зоне близкой к рубцу, так и вдали от нее в почках с использованием нити кетгута на 45,61 % и 38,0 %, а при использовании нити «Аллоплант» – на 47,46 % и 22,50 % соответственно.

На 6-е сутки достоверные ($p < 0,05$) изменения наблюдаются только вдали от рубца в почках с применением нити кетгута (повышение на 5,66 %), а при использовании нити «Аллоплант» только в зоне близкой к рубцу (снижение на 30,51 %).

С 6-х по 12-е сутки отмечено достоверное ($p < 0,05$) снижение оптической плотности ядер эпителиоцитов только в почках ушитых нитью кетгута, на

8,77% в зоне близкой к рубцу и на 9,43 % вдали от нее. К 18-м суткам, по сравнению с 15-ми, достоверные ($p<0,05$) изменения отмечены только в зоне близкой к рубцу как почек, ушитых нитью кетгута (снижение на 6,12 %), так и нитью «Аллоплант» (повышение на 17,65 %). С 18-х по 60-е сутки отмечено достоверное ($p<0,05$) снижение оптической плотности ядер эпителиоцитов в почках с применением нити кетгута только в зоне близкой к рубцу на 17,39 %, а при использовании нити «Аллоплант» – на 37,25 % в зоне близкой к рубцу и на 17,94 % вдали от нее.

Таблица 2 – Оптическая плотность ядер эпителиоцитов канальцев кроликов после частичной нефрэктомии

Сроки взятия материала	Кетгут, $M\pm m$		Аллоплант, $M\pm m$	
	В зоне рубца (n=300)	Вдали от рубца (n=300)	В зоне рубца (n=300)	Вдали от рубца (n=300)
Во время операции	0,31±0,004		0,31±0,004	
3 сутки	0,57±0,006*	0,50±0,012* ^{&}	0,59±0,005*	0,40±0,009* ^{#&}
6 сутки	0,57±0,006	0,53±0,012* ^{&}	0,41±0,014* [#]	0,36±0,006* ^{#&}
12 сутки	0,52±0,007*	0,48±0,013* ^{&}	0,40±0,013* [#]	0,36±0,006* ^{#&}
15 сутки	0,49±0,011	0,46±0,013	0,42±0,011* [#]	0,36±0,006* ^{#&}
18 сутки	0,46±0,011*	0,44±0,012	0,51±0,009* [#]	0,39±0,008* ^{#&}
60 сутки	0,38±0,006*	0,45±0,012 ^{&}	0,32±0,004* [#]	0,32±0,005* [#]

Примечание: статистическая значимость различий с более ранним сроком взятия материала:

* – $p<0,05$; между одной и той же зоной при использовании разных шовных материалов одного срока взятия материала: # – $p<0,05$; между разными зонами при использовании одного шовного материала и одного срока взятия материала: & – $p<0,05$.

Сравнивая данные между зонами исследования, установлено, что на 3-и сутки оптическая плотность ядер эпителиоцитов вдали от рубца, по сравнению с зоной близкой к рубцу, достоверно ($p<0,05$) меньше на 12,28 % в почках с применением нити кетгута, а с применением нити «Аллоплант» в этой же зоне – на 32,20 %. На 6-е сутки значения данного параметра вдали от рубца достоверно ($p<0,05$) меньше, чем в зоне близкой к нему, как в почках с применением нити кетгута, так и нити «Аллоплант» на 7,02 % и 12,20 % соответственно. На 12-е сутки оптическая плотность вдали от рубца достоверно ($p<0,05$) меньше, чем в зоне близкой к нему, как в почках с применением нити кетгута, так и нити «Аллоплант» на 7,69 % и 10,0 % соответственно. На 15-е и 18-е сутки значения данного параметра вдали от рубца достоверно ($p<0,05$) отличаются от зоны близкой к рубцу только в почках с использованием нити «Аллоплант» – меньше на 14,29 % и 23,53 % соответственно. На 60-е сутки оптическая плотность в ядрах канальцевых эпителиоцитов вдали от рубца достоверно ($p<0,05$) отличается от зоны близкой к рубцу только в почках с использованием нити кетгута – больше на 15,56 %.

Таким образом, интенсивность синтеза ДНК в эпителиоцитах канальцев почек при применении нити «Аллоплант» возрастает к 3-м суткам как в зоне

близкой к рубцу, так и вдали от нее, что связано с накоплением генетического материала для деления клеток. Далее происходит снижение данного параметра к 6-м суткам, с повторным повышением на 18-е сутки и снижением к 60-м суткам до значений, полученных во время операции. По нашему мнению, это связано с накоплением генетического материала для подготовки клеток к следующему циклу деления в процессе регенерации тканей почек. Полученные данные совпадают с результатами изучения содержания ДНК и процессов синтеза белка Т. М. Черданцевой с соавт. (2012). В почках с применением нити кетгута отмечается повышение синтеза ДНК в эпителиоцитах канальцев в зоне близкой к рубцу на 3-и сутки, а вдали от нее – на 6-е сутки, с постепенным снижением значений оптической плотности вплоть до 60-х суток. По нашему мнению, это связано с затяжным процессом восстановления, обусловленным более глубокими нарушениями структур нефрона при использовании нити кетгута. Полученные нами данные совпадают с исследованиями Ю. А. Белоус (2011).

2.2.9. Проллиферативная активность клеток структур нефрона по экспрессии белка Ki-67 после частичной нефрэктомии с использованием для ушивания рассасывающихся шовных материалов

Анализ количества Ki-67⁺ клеток в почечных канальцах кроликов после частичной нефрэктомии с использованием нити кетгута и нити «Аллоплант» позволил установить (таблица 3) волнообразный характер изменения данного параметра.

Таблица 3 – Количество Ki-67⁺ клеток в почечных канальцах кроликов после частичной нефрэктомии, кл./мм²

Сроки взятия материала	Кетгут, М±m		Аллоплант, М±m	
	В зоне рубца (n=300)	Вдали от рубца (n=300)	В зоне рубца (n=300)	Вдали от рубца (n=300)
Во время операции	79,13±1,91		79,13±1,91	
3 сутки	123,70±3,22*	122,50±0,48*	130,60±0,33*#	109,70±2,12*#&
6 сутки	127,70±1,16	113,60±1,64*#	114,40±2,45*#	95,53±0,95*#&
12 сутки	115,20±1,09*	112,00±1,77	111,90±2,09	83,67±1,44*#&
15 сутки	111,30±1,17	108,40±2,11	110,20±1,79	98,67±0,40*#&
18 сутки	109,50±0,49	106,90±1,59	125,70±0,49*#	108,50±1,56*#&
60 сутки	98,63±1,68*	89,17±1,52*#&	79,57±1,80*#	82,37±0,49*#

Примечание: статистическая значимость различий с более ранним сроком взятия материала:

* – $p < 0,05$; между одной и той же зоной при использовании разных шовных материалов одного срока взятия материала: # – $p < 0,05$; между разными зонами при использовании одного шовного материала и одного срока взятия материала: & – $p < 0,05$.

При сравнении количества Ki-67⁺ клеток в почечных установлено, что к 3-м суткам значения данного параметра достоверно ($p < 0,05$) повышаются как в зоне близкой к рубцу, так и вдали от нее в почках с применением нити кетгута

на 39,03 % и 35,40 %, а с применением нити «Аллоплант» – на 39,41 % и 27,87% соответственно.

На 6-е сутки отмечено достоверное ($p<0,05$) снижение количества Ki-67⁺ клеток в почечных канальцах в почках с использованием нити кетгута только вдали от рубца на 7,27 %, а в почках с применением нити «Аллоплант» – на 12,40 % в зоне близкой к рубцу и на 12,92 % вдали от нее.

К 12-м суткам значения этого параметра достоверно ($p<0,05$) снижаются в почках с использованием нити кетгута только в зоне близкой к рубцу на 9,89 %, и при использовании нити «Аллоплант» только вдали от рубца – на 12,41 %.

К 15-м суткам достоверные ($p<0,05$) изменения количества Ki-67⁺ клеток в почечных канальцах отмечены лишь вдали от рубца в почках, операционная рана которых была ушита нитью «Аллоплант» – увеличение на 15,20 %, по сравнению с 12-ми сутками.

С 15-х по 18-е сутки достоверные ($p<0,05$) изменения значений исследуемого параметра отмечены лишь в почках ушитых нитью «Аллоплант» – повышение на 12,33 % в зоне близкой к рубцу и на 9,06 % вдали от нее.

К 60-м суткам количество Ki-67⁺ клеток в почечных канальцах достоверно ($p<0,05$) снижается как в зоне близкой к рубцу, так и вдали от нее в почках с применением нити кетгута на 9,93 % и 16,59 %, а с применением нити «Аллоплант» – на 36,70 % и 24,08 % соответственно.

Сравнивая данные между зонами исследования, установлено, что на 3-и сутки количество Ki-67⁺ клеток в почечных канальцах вдали от рубца, по сравнению с зоной близкой к рубцу, достоверно ($p<0,05$) отличается только в почках с применением нити «Аллоплант» – меньше на 16,0 %.

На 6-е сутки значения данного параметра вдали от рубца достоверно ($p<0,05$) меньше как в почках с применением нити кетгута, так и нити «Аллоплант» на 11,04 % и 16,49 % соответственно.

На 12-е, 15-е и 18-е сутки количество Ki-67⁺ клеток в почечных канальцах вдали от рубца, по сравнению с зоной близкой к рубцу, достоверно ($p<0,05$) отличается только в почках с применением нити «Аллоплант» – меньше на 25,23 %, 10,46 % и 13,68 % соответственно.

На 60-е сутки значения данного параметра вдали от рубца, достоверно ($p<0,05$) отличается только в почках с применением нити кетгута – меньше на 9,59 %, по сравнению с зоной близкой к рубцу.

Таким образом, в почках, операционная рана которых была ушита нитью «Аллоплант», отмечается активация пролиферативных процессов на 3-и и 18-е сутки как в зоне близкой к рубцу, так и вдали от нее, на что указывает значительное увеличение количества Ki-67⁺ клеток. При использовании для закрытия операционной раны нити кетгута, активируясь на 6-е сутки, в последующем количество Ki-67⁺ клеток постепенно снижается, вплоть до 60-х суток, но значения этого показателя остаются выше, чем в тканях, отобранных во время операции. По нашему мнению, это свидетельствует о более затяжном процессе регенерации, чем в группе, где применяли нить «Аллоплант».

Вероятно, это обусловлено более значительными повреждениями структур нефрона при использовании нити кетгута.

3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований впервые показано динамичное изменение морфометрических параметров структур нефрона почек кроликов после частичной нефрэктомии с использованием для ушивания ее раны рассасывающихся шовных материалов – нить кетгута и нить «Аллоплант».

Описаны параметры ядрышковых организаторов в ядрах клеток структур нефрона в зависимости от шовного материала, использованного для закрытия операционной раны почки, с учетом близости к зоне раневого дефекта. Оценен пролиферативный потенциал клеток структур нефрона по уровню экспрессии белка Ki-67, а также изучена плотность распределения ДНК в клетках почечных канальцев и почечных телец, позволяющие судить о течении регенеративных процессов после частичной нефрэктомии у кроликов.

В результате гистохимических и иммуногистохимических исследований получены данные по идентичной динамике изменения суммарной площади ядрышковых организаторов, плотности распределения ДНК, а также количества Ki-67⁺ клеток в различных структурах нефрона в послеоперационном периоде. Это подтвердило наши предположения по более активным процессам регенерации в тканях почек после частичной нефрэктомии при использовании для ушивания операционной раны нити «Аллоплант», которые не сопровождались значительным разрастанием грубой рубцовой ткани в зоне повреждения органа в отличие от применения нити кетгута.

Проведенные исследования позволяют более глубоко понять процессы репаративной регенерации в тканях почек после частичной нефрэктомии и применять в практической ветеринарной медицине шовный материал «Аллоплант» с целью сохранения столь важного органа мочевыделительной системы, которым является почка для сохранения высокоценных животных.

Проведенные исследования позволили сделать следующие выводы и представить рекомендации по их практическому использованию.

Выводы:

1. Применение нити «Аллоплант», в отличие от кетгута, при ушивании операционной раны почки после частичной нефрэктомии не сопровождается выраженными дистрофическими процессами, значительным разрастанием грубой рубцовой ткани в зоне повреждения органа, с третьих суток начинаются активные регенеративные процессы структур нефрона.

2. Использование для закрытия операционной раны почки после частичной нефрэктомии нить «Аллоплант» сопровождается менее выраженными изменениями морфометрических параметров структур почечных телец и канальцев как в зоне близкой к операционному рубцу, так и вдали от него в отличие от применения нитей кетгута.

3. В эпителиоцитах проксимальных и дистальных канальцев при ушивании почек нитями «Аллоплант» уже на третьи сутки происходит повышение

значений ЯЦО, что свидетельствует об увеличении их метаболической активности, и она остается на достаточно высоком уровне вплоть до шестидесятих суток. При использовании нитей кетгута ЯЦО возрастает только к восемнадцатым суткам, что указывает на более длительный процесс восстановления клеток в ответ на повреждение.

4. При закрытии операционной раны почек нитью кетгута отмечается выраженная воспалительная реакция, тромбоз сосудов, дистрофические изменения структур нефрона. Наблюдается развитие коллагеноза канальцевой системы и процесса склеротизации интерстициальной ткани. В зоне повреждения образуется массивный рубец. Регенерация канальцев начинается с шестидесятих суток после хирургического вмешательства.

5. При использовании нити «Аллоплант» менее выражена воспалительная реакция и дистрофические процессы в структурах нефрона. С третьих суток наблюдается образование кровеносных сосудов, регистрируется гистологическая аккомодация канальцевой системы, шовный материал подвергается биодеструкции. На восемнадцатые сутки наблюдается регенерация канальцев, что не выявлено при использовании нитей кетгута.

6. Толщина коллагеновых волокон в операционном рубце почки после частичной нефрэктомии зависит от времени после проведения операции, а также вида используемого шовного материала. К шестидесятым суткам средние значения толщины коллагеновых волокон в группе, где применяли нить кетгута, составила $142,40 \pm 9,44$ мкм, а в группе, где использовали нить «Аллоплант» – $69,48 \pm 2,18$ мкм, что свидетельствует о более благоприятном течении процесса регенерации при использовании нити «Аллоплант».

7. В структурах нефрона в норме регистрируются от 1 до 4 зон ядрышковых организаторов с суммарной площадью от $0,47 \pm 0,03$ до $2,00 \pm 0,06$ мкм². Динамика изменения суммарной площади АгЯО в ядрах клеток почечных телец имеет волнообразный характер и зависит от вида шовного материала и близости к зоне повреждения. В канальцах нефрона при использовании кетгута суммарная площадь АгЯО достигая максимума на шестые сутки, постепенно снижается во всех зонах исследования, что указывает на затяжной регенеративный процесс. При использовании нити «Аллоплант» количество и суммарная площадь АгЯО возрастает на третьи и восемнадцатые сутки, что указывает на активацию синтеза рРНК и на повышение синтеза белка.

8. Динамика изменения плотности распределения ДНК совпадает с динамикой изменения суммарной площади АгЯО как при использовании нити кетгута, так и нити «Аллоплант». Применение нити «Аллоплант» сопровождается двумя пиками повышения плотности ДНК (на третьи и восемнадцатые сутки), при использовании нити кетгута только на шестые сутки с последующим постепенным снижением значений оптической плотности вплоть до шестидесятих суток.

9. После выполнения нефрэктомии с последующим закрытием дефекта нитями кетгута и «Аллоплант» отмечается два пика увеличения количества Ki-

67⁺ клеток (на третьи и восемнадцатые сутки), что свидетельствует об активации пролиферативных процессов. При использовании нити кетгута активация пролиферативных процессов начинается только с шестых суток, имеет более затяжной характер и характеризуется постепенным снижением количества Ki-67⁺ клеток.

Практические предложения

1. Положительные результаты, полученные при испытании в качестве шовного материала нити «Аллоплант» для закрытия операционной раны после нефрэктомии, позволяют рекомендовать его к широкому использованию в ветеринарной практике с целью сохранения столь важного органа мочевыделительной системы, которым является почка.

2. Данные по изучению регенерации тканей почек после частичной нефрэктомии, с использованием для закрытия операционной раны нитей кетгут и «Аллоплант», могут использоваться практикующими врачами для более глубокого понимания процессов регенерации и дают возможность разрабатывать новые подходы в лечении патологий почек.

3. Результаты исследований, представленные в диссертации, могут быть использованы при проведении научных исследований, в учебном процессе вузов и колледжей биологического профиля, а также при составлении монографий, учебных и справочных пособий по морфологии, патофизиологии и ветеринарной хирургии.

Рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы

Проведенные исследования позволили более глубоко понять процессы регенерации в тканях почек после частичной нефрэктомии на клеточном и субклеточном уровне, что может являться обоснованием к более широкому применению в ветеринарной хирургии шовного материала «Аллоплант». Это создает предпосылки к разработке новых подходов по сохранению столь важного органа мочевыделительной системы, особенно у пациентов с функционально единственной почкой.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных журналах и изданиях

1. Сидельников, А. И. К вопросу об изучении репаративных процессов в тканях почек при хирургических вмешательствах / А. И. Сидельников // Вестник АПК Ставрополя. – 2015. – № S1. – С. 101-104.

2. Изменение параметров ядрышковых организаторов в клетках почечных канальцев после частичной нефрэктомии при использовании для ушивания операционной раны нитей кетгута / А. И. Сидельников, А. Н. Квочко, А. Ю. Криворучко, Е. В. Шаламова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2016. – № 5 (139). – С. 143-148.

3. Изменение параметров ядрышковых организаторов в клетках почечных канальцев после частичной нефрэктомии при использовании для ушивания операционной раны нитей «Аллоплант» / В. И. Трухачев, А. И. Сидельников, А.

Н. Квочко, Е. В. Шаламова // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2016. – № 7(118). – С. 185-192.

Патенты на изобретения

4. Патент 2550879 Российская Федерация, МПК⁵¹ G01N1/30, G01N33/48. Способ окраски мазков крови для микроскопического определения структурной организации и фаз активности клеток / Трухачев В. И., Квочко А. Н., Криворучко А. Ю., Сидельников А. И., Воронин М. А., Хоришко П. А., Цыганский Р. А., Данников С. П., Некрасова И. И., Шаламова Е. В., Арушанян А. Г., Скрипкин В. С., Писаренко Н. А., Белугин Н. В., Копытко А. С., Матюта М. А.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ставропольский государственный аграрный университет». – № 2014112496/05 ; заявл. 31.03.2014 ; опубл. 20.05.2015, Бюл №14. – 16 с.

5. Патент 2551345 Российская Федерация, МПК⁵¹ А61В 17/00, А61D 99/00. Хирургический способ доступа к почке у собак и кошек / Трухачев В. И., Квочко А. Н., Криворучко А. Ю., Сидельников А. И., Воронин М. А., Хоришко П. А., Данников С. П., Некрасова И. И., Шаламова Е. В., Арушанян А. Г., Скрипкин В. С., Писаренко Н. А., Белугин Н. В.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ставропольский государственный аграрный университет». – №2014112371/14 ; заявл. 31.03.2014 ; опубл. 20.05.15, Бюл. №14. – 11 с.

Статьи в других научных изданиях

6. Сидельников, А. И. Оценка метаболической активности клеток почечных канальцев кроликов после частичной нефрэктомии / А. И. Сидельников // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2016. – № 7(4). – С. 10-14.

7. Сидельников, А. И. Состояние почечных телец кроликов после частичной нефрэктомии при использовании в качестве шовного материала нитей кетгута и «Аллопланта» / А. И. Сидельников // Современные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2016. – С. 25-31.

8. Развитие коллагеновых волокон в рубце почки после частичной нефрэктомии при использовании в качестве шовного материала кетгут и Аллоплант / А. И. Сидельников, А. Н. Квочко, Е. В. Шаламова // Евразийский союз ученых. – 2016. – №5 (26). – С. 109-111.

9. Sidelnikov, A. I. State of proximal and distalrenal tubules in rabbits after partial nephrectomy while using catgut and «alloplant» sutures as a suture material / A. I. Sidelnikov // MODERN SCIENCE. – 2016. – V. 7. – P. 13-18.

Подп. в печать 20.10.2016 г. Бумага офсетная. Формат 60/84 1/16.
Зак. № 57. Печ. лист 1,0. Тираж 100 экз.

Цех оперативной полиграфии ФГБНУ ВНИИОК
г. Ставрополь, пер. Зоотехнический 15.