

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: B4103 Zootechnika

Studijní obor: Zootechnika

Katedra: Zootechnických věd

Vedoucí katedry: prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
POSTNATÁLNÍ ZMĚNY LEDVIN KRÁLÍKA

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Roman Konečný, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

Autor bakalářské práce: Adéla Ročeňová

České Budějovice, 2020

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Zemědělská fakulta

Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Adéla ROČEŇOVÁ**
Osobní číslo: **Z17190**
Studijní program: **B4103 Zootechnika**
Studijní obor: **Zootechnika**
Téma práce: **Postnatální změny ledvin králíka**
Zadávající katedra: **Katedra zootechnických věd**

Zásady pro vypracování

Ledviny jsou hlavním exkrečním orgánem organismu, který se skládá z kůry a dřene.
Hlavní morfológickou a funkční jednotkou ledvin je nefron.
Nefrogenéze je dokončena u jednotlivých druhů zvířat v různém období.

Cílem práce je rozšířit poznatky o histologických změnách ledvin v průběhu rané ontogeneze.

Zpracujete literární přehled morfológické stavbě a embryonálním vývoji ledvin.
V definovaném věku pokusných králíků provedete odběr vzorků ledvin.
Odebranou tkáň zpracujete běžnou histologickou technikou.
V získaných řezech vyhodnotíte mikroskopickou stavbu ledvin.
Morfometricky získáte data o velikosti ledvinných tělísek.
Pomocí vhodných statistických metod provedete analýzu dat mezi různými věkovými skupinami.

Rozsah pracovní zprávy: 30 – 40 stran
Rozsah grafických prací: 4 tabulky, 2 grafy
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam doporučené literatury:

Olivetti G, Anversa P, Rigamonti W, Vitali-Mazza L, Loud AV (1977): Morphometry of the renal corpuscle during normal postnatal growth and compensatory hypertrophy. A light microscope study. J Cell Biol. 75 :573-585.

Little MH, McMahon AP (2012) Mammalian kidney development: principles, progress, and projections. Cold Spring Harb Perspect Biol 4: a008300.

Seely JC. (2017): A brief review of kidney development, maturation, developmental abnormalities, and drug toxicity: juvenile animal relevancy. J Toxicol Pathol. 30(2):125-133.

Samuelson, D. A. (2007): Textbook of veterinary histology. 1st ed. St. Louis: Saunders-Elsevier, 560 s. ISBN0721681743.

Elektronické informační zdroje Akademické knihovny JU v Č. Budějovicích (internetové databáze): ISI Web of Knowledge (Web of Science), Pubmed, příslušné odborné a vědecké časopisy.

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Roman Konečný, Ph.D.
Katedra zootechnických věd

Konzultant bakalářské práce: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.
Katedra zootechnických věd

Datum zadání bakalářské práce: 25. března 2019

Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2020

V Českých Budějovicích dne 26. března 2019

prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Budejská 1008, 370 08 České Budějovice

L.S.

prof. Ing. Václav Matoušek, CSc.
vedoucí katedry

Prohlášení

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne:

Adéla Ročeňová

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce, Ing. Romanovi Konečnému, Ph.D. za veškerou pomoc při jejím zpracování.

Abstrakt

Ledviny jsou hlavní exkretční orgán, který dokončuje morfologický a funkční vývoj v druhově odlišném postnatálním období života jedince. Tato bakalářská práce se zabývala morfometrickými a histologickými změnami ledvin králíků. Do studie bylo zařazeno 42 králíků plemene novozélandský bílý ve věku 0, 5, 10, 14, 19, 27, 32 dní. V tomto období byla stanovena délka, šířka a hmotnost ledvin a histologické změny a ve věku 14, 19, 27, 32 dní také délka, šířka, plocha a počet ledvinných tělísek. U novorozených králíků dosahovala průměrná délka ledvin $9,75 \pm 0,66$ mm a šířka $5,88 \pm 0,78$ mm. V průběhu 32 dní došlo k nárůstu délky o 117,44 % ($21,2 \pm 1,71$ mm) a šířky o 144,90 % ($14,4 \pm 1,61$ mm). Nejvýraznější nárůst délky a šířky ledvin proběhl v prvních 19 dnech života (délka 110,26 %, šířka 144,56 %). Průměrná hmotnost ledvin novorozeného králíka byla $0,25 \pm 0,03$ g a 32. den $2,40 \pm 0,83$ g. V ledvinách byla do 10 dní věku pozorována nefrogenní zóna a nefrony I. a II. typu. Do 19. dne se vyskytovaly nefrony typu III. Počátek diferenciacce dřene na vnitřní a vnější zónu byl zaznamenán v 10 dnech a ve 14 dnech byly zóny plně rozlišitelné. U 14denních jedinců byla průměrná délka ledvinných tělísek $55,10 \pm 6,32$ μm , šířka $67,51 \pm 8,91$ μm a plocha $3125,25 \pm 778,99$ μm^2 . Ve 32 dnech dosahovala délka $76,90 \pm 6,26$ μm , šířka $93,96 \pm 6,10$ μm a plocha $5963,06 \pm 851,05$ μm^2 . Mezi tělesnou hmotností a morfometrickými parametry ledvin byly zjištěny vysoké korelační koeficienty v rozmezí od 0,886 do 0,972. Mezi hmotností ledvin a morfometrickými parametry ledvinných tělísek byly též zjištěny vysoké korelační koeficienty. Mezi plochou a počtem tělísek byl shledán záporný koeficient ($r_{xy} = -0,997$).

Klíčová slova: králík, ledvina, morfometrie, histologie, postnatální vývoj

Abstract

The kidneys are the main excretory organ that completes morphological and functional development in a species-different postnatal period of an individual's life. This bachelor thesis dealt with morphometric and histological changes in the kidneys of rabbits. The study included 42 New Zealand white rabbits at the age of 0, 5, 10, 14, 19, 27, 32 days. During this period, the length, width and weight of the kidneys and histological changes were determined, and at the age of 14, 19, 27, 32 days also the length, width, area and number of renal corpuscles. In newborn rabbits, the average kidneys length was 9.75 ± 0.66 mm and the width was 5.88 ± 0.78 mm. Over 32 days, length increased by 117.44% (21.2 ± 1.71 mm) and width by 144.90 % (14.4 ± 1.61 mm). The most significant increase in kidneys length and width occurred in the first 19 days of life (length 110.26 %, width 144.56 %). The average kidneys weight of the newborn rabbit was 0.25 ± 0.03 g and 2.40 ± 0.83 g on day 32. A nephrogenic zone and nephrons type I and II were observed in the kidneys up to 10 days of age. By day 19, nephrons type III were present. The onset of marrow differentiation into inner and outer zones was noted at 10 days and at 14 days the zones were fully distinguishable. In 14-day-old individuals, the average length of renal corpuscles was 55.10 ± 6.32 μm , width 67.51 ± 8.91 μm and area 3125.25 ± 778.99 μm^2 . In 32 days, the length reached 76.90 ± 6.26 μm , the width 93.96 ± 6.10 μm and the area 5963.06 ± 851.05 μm^2 . High correlation coefficients ranging from 0.886 to 0.972 were found between body weight and renal morphometric parameters. High correlation coefficients were found also between the weight of the kidneys and the morphometric parameters of the renal corpuscles. A negative coefficient was found between the area and the number of renal corpuscles ($r_{xy} = -0.997$).

Keywords: rabbit, kidney, morphometry, histology, postnatal development

Obsah

1. ÚVOD A CÍL.....	10
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	11
2.1 Anatomické uspořádání ledvin.....	11
2.2 Histologická stavba ledvin	11
2.2.1 Kůra (<i>cortex renis</i>)	12
2.2.2 Dřeň (<i>medulla renis</i>)	13
2.2.3 Nefron.....	13
2.2.3.1 Ledvinné tělísko (<i>corpusculum renis</i>).....	14
Glomerulus (<i>glomerulus corpusculi renis</i>)	15
Pouzdro ledvinného tělíška (<i>capsula glomeruli</i> , Bowmanovo pouzdro)...	16
2.2.3.2 Močový kanálek (<i>tubulus renis</i>).....	16
Proximální tubulus (<i>tubulus proximalis</i>).....	16
Henleova klička (<i>ansa nephroni</i>).....	17
Distální tubulus (<i>tubulus distalis</i>)	18
Spojovací úsek (<i>tubulus conjugens</i>).....	18
2.2.4 Intrarenální vývodné močové cesty.....	19
2.2.4.1 Sběrací kanálky (<i>tubulus colligens</i>)	19
2.2.4.2 Papilární vývody (<i>ductus papillaris</i>).....	19
2.3 Cévní zásobení a inervace ledvin	19
2.4 Funkce ledvin	20
2.4.1 Tvorba moči	20
2.4.1.1 Glomerulární filtrace.....	21
2.4.1.2 Tubulární resorpce a sekrece.....	21
2.4.2 Endokrinní systém ledvin.....	22
2.5 Embryonální vývoj ledvin	23
2.5.1 Pronefros	23
2.5.2 Mezonefros.....	24
2.5.3 Metanefros.....	24
3. MATERIÁL A METODY	26
3.1 Experimentální zvířata a odběr vzorků	26
3.2 Histologické zpracování vzorku.....	26
3.3 Morfometrická analýza	27

3.4	Statistické zpracování dat.....	27
4.	VÝSLEDKY A DISKUZE	28
4.1	Morfometrické parametry ledvin v průběhu postnatálního období.....	28
4.2	Postnatální změny v ledvinách králíka.....	30
5.	ZÁVĚR	37
6.	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	38
7.	SEZNAM TABULEK	38
8.	SEZNAM GRAFŮ.....	38
9.	SEZNAM ZKRATEK	39
10.	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	40

1. ÚVOD A CÍL

Ledviny jsou párové složité tubulózní žlázy, které hrají významnou roli v udržení homeostázy organismu. Mimo exkreční funkce vykonávají i endokrinní funkci, a to produkci hormonu erythropoetinu a prostaglandinů. Velikost a tvar ledvin jsou druhově specifické. U králíků mají fazolovitý tvar a z hlediska embryonálního vývoje se jedná o hladké unipapilární ledviny. Každou ledvinu tvoří makroskopicky odlišitelná kůra a dřeň. Jejich základní morfológickou a funkční jednotkou je nefron, který sestává z ledvinného tělíska a močového kanálku. V průběhu embryonálního období prochází ledviny třemi vývojovými stádii (pronefros, mezonefros, metanefros) a jejich morfológický a fyziologický vývoj se ukončuje v postnatálním období. Toto období je však druhově rozdílné.

Králíci jsou významná modelová zvířata, která se využívají při toxikologických, imunologických a fyziologických studiích. Pro správné vyhodnocení těchto studií je také nezbytná znalost morfológické stavby ledvin v různých obdobích postnatálního života. Cílem práce bylo rozšířit poznatky o morfometrických a histologických změnách ledvin králíků do 32. dne věku.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Anatomické uspořádání ledvin

Ledvina (*ren*) je párový orgán hnědočervené barvy, tuhé konzistence a fazolovitého tvaru s hladkým povrchem (MARVAN *et al.*, 1998; KEEBLE *et BENATO*, 2013). U dospělého jedince je asi 3 cm dlouhá, 2 cm široká a 1 cm silná (KNOTEK *et al.*, 1999).

Jsou uloženy retroperitoneálně na stropu břišní dutiny, ventrálně od velkého a malého bedrovce (MARVAN *et al.*, 1998). Pravá ledvina je nepatrně větší a je uložena na úrovni 1. bederního obratle (KEEBLE *et BENATO*, 2013). Dotýká se jater, kde vytváří *impressio renalis* (MARVAN *et al.*, 1998; KNOTEK *et al.*, 1999). Levá ledvina se nachází mezi 2. a 4. bederním obratlem (KEEBLE *et BENATO*, 2013). Kaudálnější uložení je z důvodu expanze velkého zakřivení žaludku (LOUIE *et al.*, 2009). Konvexní okraj směřuje laterálně. Na konkávním okraji, směřujícím mediálně, se nachází ledvinná branka (*hilus renalis*), která vede do ledvinné jamky (*sinus renalis*) (TICHÝ *et al.*, 2004). Brankou do ledviny vstupují nervy, vstupují a vystupují krevní a lymfatické cévy a vystupuje zde močovod (TICHÝ *et al.*, 2004; TILLSON *et TOBIAS*, 2012; MESCHER, 2013).

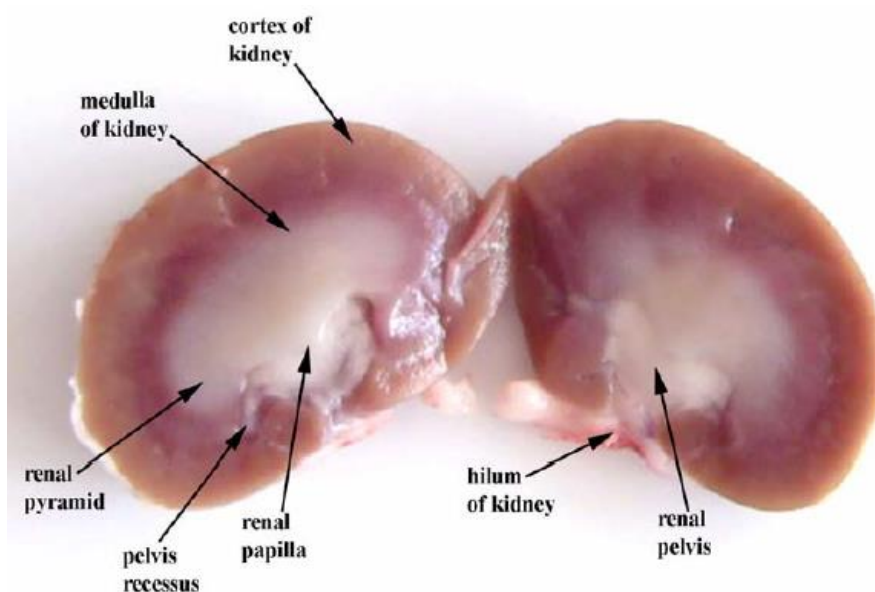
2.2 Histologická stavba ledvin

Jde o tubulózní složitou žlázu, jejímž exkretem je moč (NOVOTNÝ *et al.*, 1966). Ledvina je kryta vazivovým pouzdem (*capsula fibrosa*), které lze snadno sloupnout (KÖNIG *et LIEBICH*, 2002; TILLSON *et TOBIAS*, 2012). To se skládá převážně z kolagenních vláken, ale může obsahovat hladkou svalovinu a krevní cévy (EURELL *et FRAPPIER*, 2006). K parenchymu ledviny je připojeno tenkou vrstvou řídkého kolagenního vaziva, které přechází do jemného vmezeřeného vaziva (TICHÝ *et al.*, 2004). Takto obalená ledvina je vložena do tukového pouzdra (*capsula adiposa*) (TICHÝ *et al.*, 2004). Z ventrální strany je toto pouzdro pokryto pobřišnicí (MARVAN *et al.*, 1998).

Parenchym se skládá ze dvou složek rozdílných svou funkcí, stavbou a vývojem (ČERVENÝ, 1998). Jsou to vlastní žlázové (exkreční) složky, tvořené nefrony, a systém intrarenálních vývodných cest, tvořený sběracími kanálky

a papilárními vývody (ČERVENÝ, 1998; TICHÝ *et al.*, 2004). Na uspořádání parenchymu se podílejí nefrony, vmezeřené vazivo a krevní řečiště (MARVAN *et al.*, 1998). Skládá se z kůry a dřene (Obrázek 1), které v průběhu embryonálního vývoje srostly (SAMUELSON, 2007). Ledvina králíka je z tohoto důvodu popisována jako unipapilární, jejíž stavba je nejjednodušší a odpovídá jednomu laloku (HARCOURT-BROWN, 2002; KEEBLE *et BENATO*, 2013; KRIZ *et KAISLING*, 2013).

Obrázek 1: Řez králičí ledvinou



Cortex of kidney: kůra ledviny; Medulla of kidney: dřeň ledviny, Renal pyramid: dřeňová pyramida; Renal papilla: ledvinná papila; Hilum of kidney: ledvinná branka; Renal pelvis: ledvinná pánvička.

Převzato od DIMITROV *et al.* (2012)

2.2.1 Kůra (*cortex renis*)

Kůra má červenohnědou barvu a jemně zrnitou strukturu (MARVAN *et al.*, 1998). Tvoří ji ledvinná tělíska, stočené úseky močových kanálků a krevní cévy spojené fibrilárním pojivem (NOVOTNÝ *et al.*, 1966). Strukturu korové vrstvy lze rozdělit na medulární paprsky (*pars radiata corticis*), složené ze sběracích kanálků a přímých částí nefronů, a povrchovou vrstvu kortikálního labyrintu (*pars convoluta corticis*), který se nachází mezi paprsky a skládá se z ledvinných tělísek a stočených proximálních a distálních tubulů. (BACHA *et BACHA*, 2000; TICHÝ *et al.*, 2004).

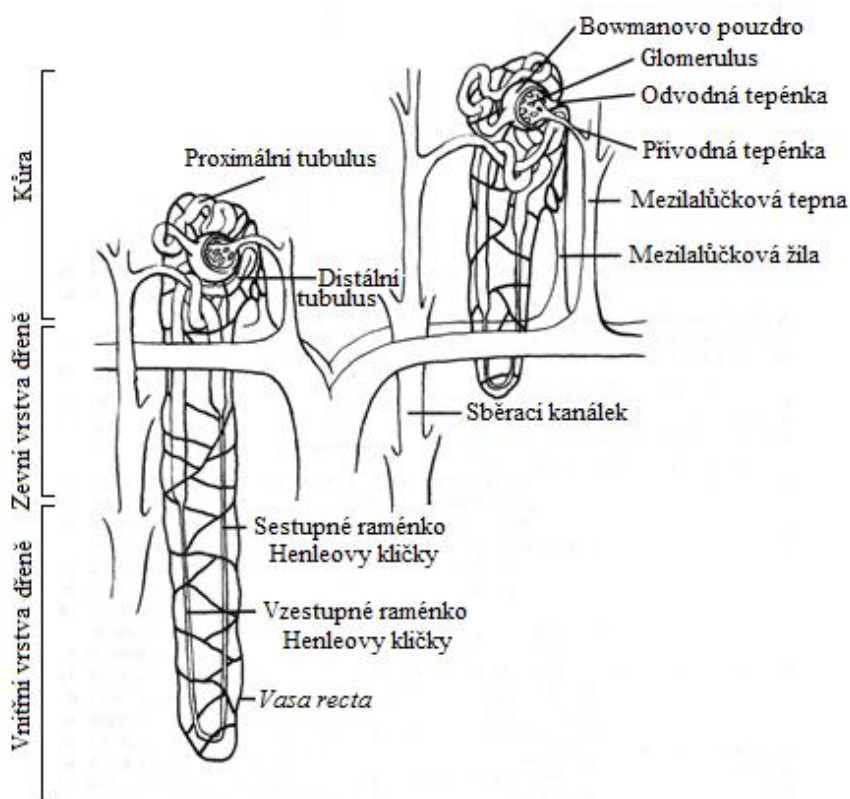
2.2.2 Dřeň (*medulla renis*)

Oproti ostatním druhům je jednoduchá struktura králičí dřeně považována za primitivní (SUCKOW *et al.*, 2012). Má červenou až šedožlutou barvu a je paprscitě žíhaná (TICHÝ *et al.*, 2004). Je složena z Henleových kliček, sběracích kanálek a *vasa recta* (BACHA *et* BACHA, 2000; SUCKOW *et al.*, 2012). Dělí se na vnitřní a vnější zónu, která se dále dělí na vnitřní a vnější proužky. (EURELL *et* FRAPPIER, 2006; SUCKOW *et al.*, 2012; KEEBLE *et* BENATO, 2013). Vnější proužek se skládá z proximálních tubulů a vnitřní proužek ze sběracích kanálek a tlustého a tenkého raménka Henleových kliček (EURELL *et* FRAPPIER, 2006). Rozdílným uspořádáním a délkou tubulů má dřeň tvar pyramidy, jejíž bazální část směřuje k povrchu ledviny (AL-JEBORI *et al.*, 2014). Apikální část pyramidy, papila, je proděravělá otvory papilárních vývodů (TICHÝ *et al.*, 2004). Na jedinou papilu navazuje kalich, který vstupuje do ledvinné pánvičky, která je zde přímým rozšířením močovodu (LOUIE *et al.*, 2009; SUCKOW *et al.*, 2012). Pánvička se nachází v ledvinné jamce, která se otevírá ledvinnou brankou k mediálnímu povrchu ledviny (KRIZ *et* KAISLING, 2013). Tkáň pánvičky tvoří dvě septa, která obklopují pyramidu. Stěnu ledvinné pánvičky tvoří dvě vrstvy hladké svaloviny. Vnitřní vrstva leží blízko báze papily a pokračuje hladkou svalovinou močovodu. Vnější vrstva pokrývá pouze ledvinnou pánvičku a je vysoce inervovaná (SUCKOW *et al.*, 2012).

2.2.3 Nefron

Nefron je morfológickou a funkční jednotkou ledvin (EURELL *et* FRAPPIER, 2006; SAMUELSON, 2007). Skládá se z ledvinného tělíska a močového kanálku (MARVAN *et al.*, 1998; TICHÝ *et al.*, 2004). Podle umístění se dělí na superficiální a juxtamedulární (Obrázek 2) (REECE, 2011; ZHUO *et* LI, 2013). Ledvinná tělíska superficiálního nefronu se nacházejí v povrchové a střední vrstvě kůry. Jejich klička dosahuje na hranici kůry a dřeně, nebo až do zevní zóny dřeně. Ledvinná tělíska juxtamedulárních nefronů leží blízko hranice kůry a dřeně. Klička zasahuje hluboko do dřeně a v některých případech proniká až k ledvinné pánvičce (REECE, 2011).

Obrázek 2: Popis juxtamedulárního a superficiálního nefronu

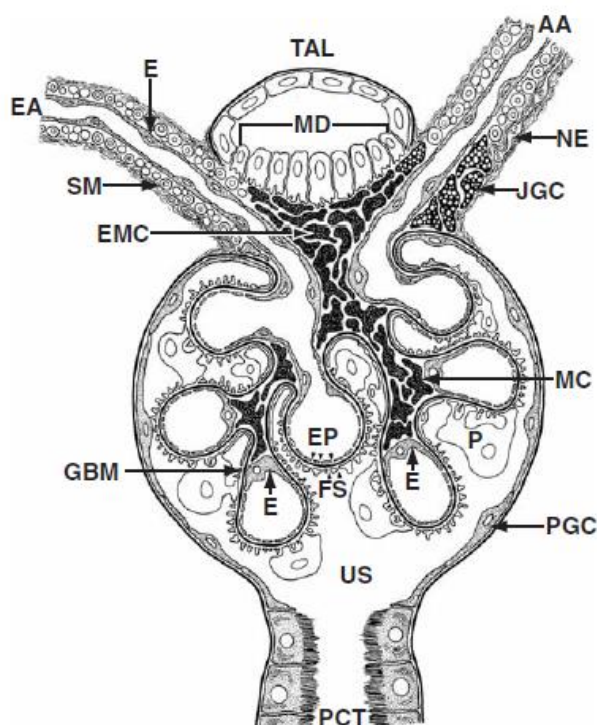


Upraveno dle REECE (2011)

2.2.3.1 Ledvinné tělíčko (*corpusculum renis*)

Ledvinné tělíčko má kulovitý tvar a je uloženo v kůře ledviny (Obrázek 3) (TICHÝ *et al.*, 2004). Velikost je druhově specifická (EURELL *et FRAPPIER*, 2006). Tvoří ho klubičko krevních kapilár (glomerulus) které je obaleno zdvojeným epitelovým pouzdem. Z cévního pólu (*polus vascularis*) vystupují a vstupují tepénky a z močového pólu (*polus tubularis*) vystupuje proximální stočený kanálek (TICHÝ *et al.*, 2004).

Obrázek 3: Ledvinné tělísko



AA: přívodná tepénka, EA: odvodná tepénka, E: endoteliální buňky, EP: endotelové póry, MC: mesangiové buňky, GBM: bazální membrána glomerulu, P: podocyty, PGC: ploché buňky vnějšího listu Bowmanovo pouzdra, FS: filtrační štěrbinu, US: močový prostor, PCT: proximální tubulus, MD: macula densa, TAL: distální tubulus, EMC: extraglomerulární mesangiové buňky, JGC: juxtaglomerulární buňky, SM: hladká svalovina.

Převzato od EURELL *et* FRAPPIER, 2006.

Glomerulus (*glomerulus corpusculi renis*)

Glomerulus se skládá ze sítě anastomozujících fenestrovaných kapilár. Jejich stěnu tvoří bazální membrána a jedna vrstva plochých endotelových buněk, které mají tenkou cytoplazmu proděravěnou póry nekrytými diafragmou (TICHÝ *et al.*, 2004; EURELL *et* FRAPPIER, 2006). Bazální membrána glomerulu je tvořena 3 vrstvami: *lamina rara interna*, která naléhá na endotel kapilár, prostřední *lamina densa* a *lamina rara externa*, která sousedí s podocyty (KUEHNEL, 2003; EURELL *et* FRAPPIER, 2006).

Mezi kličkami kapilár glomerulu se nacházejí mesangiální buňky (mesangium) (TICHÝ *et al.*, 2004). Tyto buňky na cévním pólu tělíska přecházejí do extraglomerulárních mesangiálních buněk (Obrázek 3) (LÜLLMANN-RAUCH, 2012). Jsou mezenchyálního původu a svými cytoplazmatickými výběžky pronikají mezi

endotelové buňky. Považují se za modifikované a specializované pericyty. Mesangiální buňky tvoří součást juxtaglomerulárního aparátu (TICHÝ *et al.*, 2004).

Pouzdro ledvinného tělíska (*capsula glomeruli*, Bowmanovo pouzdro)

Pouzdro ledvinného tělíska je tvořeno dvěma listy epitelových buněk. Na cévním pólu v sebe oba listy přecházejí a mezi listy se vytváří močový prostor (*lumen capsulae*), který pokračuje do lumina krčku močového kanálku (NOVOTNÝ *et al.*, 1966; TICHÝ *et al.*, 2004).

Vnější (*parietální*) list ohraničuje ledvinné tělísko a je tvořen jednovrstevným dlaždicovým epitelem nasedajícím na bazální membránu, ke které přiléhá tenká vrstva retikulárních vláken (JUNQUEIRA *et al.*, 1997; TICHÝ *et al.*, 2004). Na močovém pólu přechází epitel v jednovrstevný cylindrický (JUNQUEIRA *et al.*, 1997).

Vnitřní (*viscerální*) list těsně přiléhá ke stěnám kapilár glomerulu a je tvořen vrstvou plochých epitelových buněk hvězdicovitého tvaru (podocytů), které nasedají na bazální membránu (TICHÝ *et al.*, 2004). Tyto buňky mají primární výběžky, které vysílají četné sekundární výběžky (pedikly) obklopující kapiláry glomerulu (JUNQUEIRA *et al.*, 1997). Cytoplazma podocytů obsahuje volné ribozomy, výrazný Golgiho komplex a četná mikrofilamenta a mikrotubuly. Pedikly se na bazální membráně zakončují jako patkovité rozšíření. Bazální membrána podocytů splývá s bazální membránou kapilár ve trojvrstevnou strukturu. Vrstvy tvoří *lamina rara interna (subendothelialis)*, střední *lamina densa* a *lamina rara externa (subepithelialis)* (TICHÝ *et al.*, 2004).

2.2.3.2 Močový kanálek (*tubulus renis*)

Močový kanálek je tvořen proximálním tubulem, Henleovou kličkou, distálním tubulem a spojovacím úsekem (TICHÝ *et al.*, 2004).

Proximální tubulus (*tubulus proximalis*)

Přechodem vnějšího listu pouzdra ledvinného tělíska vzniká na jeho močovém pólu proximální tubulus (TICHÝ *et al.*, 2004). U králíků je glomerulus

a proximální stočený tubulus spojen krátkou oblastí krčku (BREWER, 2006). Tento segment močového kanálku je delší než distální tubulus (BACHA *et* BACHA, 2000; EURELL *et* FRAPPIER, 2006). Skládá se ze stočené části (*pars contorta*, PCT), která leží v blízkosti ledvinného tělíska, a přímé části (*pars recta*, PST), která ve dřeni ledviny přechází do Henleovy kličky (TICHÝ *et al.*, 2004). Proximální tubulus je rozdělen do 3 segmentů. PCT-S1 tvoří první dvě třetiny tubulu, PCT-S2 tvoří poslední třetinu PCT a první část přímé části a PCT-S3 tvoří koncovou část přímé části (BREWER, 2006; SUCKOW *et al.*, 2012). Oproti potkanům zahrnuje králíci S2 větší část přímé části a v porovnání s ostatními druhy je přechod mezi S2 a S3 postupnější (BREWER, 2006).

Kanálek je vystlán vysokým kubickým epitelem. Bazální povrch má hustou cytoplazmu a je větší než apikální část. Stočená část tubulu u králíka nemá jasný okraj kartáčového lemu a má méně acidofilní vzhled (AL-JEBORI *et al.*, 2014). Na bazální straně tvoří buněčná membrána členěné záhyby (bazální labyrint), které zvětšují povrch buňky a uplatňují se při vstřebávání a vylučování látek. Mezi záhyby jsou do sloupců uloženy mitochondrie. Sousedící buňky jsou spojeny členitými interdigitacemi. Pod bazální membránou se nachází hustá síť fenestrovaných kapilár odstupujících z odvodné tepénky (TICHÝ *et al.*, 2004).

Henleova klička (*ansa nephroni*)

Henleova klička je téměř celá uložená ve dřeni ledviny a má tvar písmene U. Tvoří ji sestupné raménko (*pars descendens*), směřující do hlubokých vrstev dřene, a vzestupné raménko (*pars ascendens*), které postupuje zpět do kůry a v blízkosti ledvinného tělíska přechází v distální tubulus (TICHÝ *et al.*, 2004). Struktura je rozdělena na 4 segmenty: tlusté sestupné raménko, tenké sestupné raménko, tenké vzestupné raménko (u nefronů s dlouhými kličkami) a tlusté vzestupné raménko (MESCHER, 2013).

Tenký segment je vystláný jednovrstevným plochým epitelem a má průměr 10-15 μm . Jádra nevýrazně prominují do lumina kanálku. Volný povrch buněk je členěn do ojedinelých mikroklků. Cytoplazma obsahuje málo organel a je světlá, eozinofilní. Tlustý segment je vystláný jednovrstevným kubickým epitelem a má průměr 30 μm . Na apikálním povrchu jsou ojedinelé mikroklky (TICHÝ *et al.*, 2004).

Juxtamedulární nefrony se vyznačují neobyčejně dlouhou Henleovou kličkou, která zasahuje hluboko do dřene a ohýbá se v oblasti tenkého segmentu. Superficiální nefrony mají krátkou kličku a tenký segment sestupného raménka, ohbí je tvořeno tlustým segmentem (TICHÝ *et al.*, 2004).

AL-JEBORI *et al.* (2014) udává, že králičí ledviny mají větší poměr krátkých kliček, naopak SUCKOW *et al.* (2012) popisuje, že mají 66 % dlouhých kliček a 34 % krátkých kliček a BREWER (2006) uvádí 70 % dlouhých a 40 % krátkých kliček.

Distální tubulus (*tubulus distalis*)

Distální tubulus leží v kůře a skládá se z přímé (*pars recta*) a stočené části (*pars contorta*) (MARVAN *et al.*, 1998). Tubuly jsou krátké, avšak lumenální průměry jsou větší než u proximálních tubulů, ale menší než u sběracích kanálků (AL-JEBORI *et al.*, 2014). Je vystlán jednovrstevným kubickým epitelem. Apikální povrch buněk vybíhá v řídké mikroklky, mezibuněčné hranice jsou zřetelné a je vyvinut bazální labyrint. Stěnu distálního kanálku obklopuje hustá síť fenestrováných kapilár (TICHÝ *et al.*, 2004).

Počáteční úsek stočené části přiléhá v blízkosti cévního pólu ledvinného tělíska ke stěně přívodné tepénky. Nacházejí se zde vysoké cylindrické buňky s tmavými, palisádově uspořádanými jádry. Tato oblast se díky nahloučení jader, a tím tmavšímu zbarvení označuje jako *macula densa* (TICHÝ *et al.*, 2004; AL-JEBORI *et al.*, 2014). Buňky *macula densa* jsou od přívodné tepénky odděleny tenkou bazální membránou (TICHÝ *et al.*, 2004).

Spojovací úsek (*tubulus conjugens*)

Spojovací úsek je poslední částí nefronů a navazuje na něho systém vývodů ledviny (TICHÝ *et al.*, 2004). Tento úsek může být vystlán několika typy epitelových buněk, které mají odlišnou výšku, hustotu a tvar, čímž tak dávají vzhled nepravidelného uspořádání (MESCHER, 2013).

2.2.4 Intrarenální vývodné močové cesty

Intrarenální vývodné močové cesty jsou tvořeny sběracími kanálky a papilárními vývody (TICHÝ *et al.*, 2004).

2.2.4.1 Sběrací kanálky (*tubulus colligens*)

Sběrací kanálky se sbíhají v ledvinné kůře a vytvářejí medulární paprsky (AL-JEBORI *et al.*, 2014). Jsou vystlány jednovrstevným kubickým epitelem. Cytoplazma je světlá, obsahuje tmavé oválné jádro a apikální povrch kopulovitě prominuje do lumina kanálku. Bazální labyrint není výrazný, hranice buněk jsou zřetelné (TICHÝ *et al.*, 2004; AL-JEBORI *et al.*, 2014).

2.2.4.2 Papilární vývody (*ductus papillaris*)

Papilární vývody navazují na sběrací kanálky a jsou vystlány jednovrstevným cylindrickým epitelem, který je složen ze světlých buněk s chudou organelovou výbavou. Ohraničení je zřetelné. Ústí papilárních vývodů tvoří proděravěnou oblast na vrcholu papily ledvinné pyramidy (TICHÝ *et al.*, 2004).

2.3 Cévní zásobení a inervace ledvin

Krev je do ledviny přiváděna z břišní aorty prostřednictvím ledvinné tepny (*arteria renalis*), která ledvinnou brankou vstupuje do vaziva ledvinné jamky (NOVOTNÝ *et al.*, 1966). Zde dochází k dělení na mezilalokové tepny (*aa. interlobares*), probíhající do subkortikální oblasti, kde se dále dělí na obloukovité tepny (*aa. arcuatae*) a poté vydávají mezilalůčkové tepny (*aa. interlobulares*) (EURELL *et* FRAPPIER, 2006). Z těch odstupují přívodné tepénky (*arteriolae glomerulares afferentes*), které vnikají do cévního pólu ledvinných tělísek, tvoří kapilární smyčky glomerulu, opět se spojují v odvodné tepénky (*arteriolae glomerulares efferentes*) a opouštějí cévní pól ledvinných tělísek (NAJBRT *et al.*, 1982; KÖNIG *et* LIEBICH, 2002). Odvodné tepénky povrchových nefronů se rozpadají na peritubulární kapilární síť, která zásobuje proximální a distální tubulus. Odvodné tepénky juxtamedulárních nefronů vysílají kapilární cévy, které pronikají do dřene,

kde vzniká dřevňový cévní systém *vasa recta* (JUNQUEIRA *et al.*, 1997; REECE, 2011). Odkysličená krev je odváděna žilami, které se postupně slévají do ledvinné žíly (*venae renalis*) ústící do zadní duté žíly (*v. cava caudalis*) (MARVAN *et al.*, 1998).

Povrchové sítě mízních vlásečnic vznikají ve vazivovém i tukovém pouzdru a anastomozují s hlubšími sítěmi kolem glomerulů a močových kanálků (NOVOTNÝ *et al.*, 1966). Většina mízních cév ledvin pochází z kůry a probíhají k *lymphonodi lumbales aortici*. Mízní uzliny uložené u ledvin se nazývají *lymphonodi renales* (KÖNIG *et* LIEBICH, 2002).

K inervaci dochází prostřednictvím *plexus celiacus*. Sympatická vlákna tvoří synapse v *ganglion celiacum* a *ganglion mesentericum craniale* a v menších *ganglia aorticorenales* v periferních částech plexu. Parasympatickou inervaci zajišťuje *nervus vagus* (KÖNIG *et* LIEBICH, 2002; DYCE *et al.*, 2010).

2.4 Funkce ledvin

Močový systém vylučuje odpadní produkty metabolismu, a tím udržuje homeostázu (JUNQUEIRA *et al.*, 1997). Králík má jeden z nejvyšších vylučovacích poměrů a vylučuje až 160 % filtrované zátěže (BREWER, 2006). V ledvinách vzniká moč, která je pomocí močovodů dopravena do močového měchýře, ve kterém je dočasně skladována a poté močovou trubicí odvedena z těla. Ledviny produkují hormony a regulují rovnováhu tekutin a elektrolytů na úrovni celého organismu (JUNQUEIRA *et al.*, 1997).

2.4.1 Tvorba moči

Tvorba moči probíhá nepřetržitě (JELÍNEK *et* KOUDELA, 2003). Podílejí se na ní 3 procesy: glomerulární filtrace, tubulární resorpce a tubulární sekrece (REECE, 2011). Objem a složení tělesných tekutin jsou regulovány změnami rychlosti glomerulární filtrace a transportních procesů různých epitelů močových kanálků (EURELL *et* FRAPPIER, 2006).

2.4.1.1 Glomerulární filtrace

Ultrafiltrací krevní plazmy z glomerulu do pouzdra ledvinného tělíska vzniká ultrafiltrát (primární moč, glomerulární filtrát), který obsahuje velmi malou koncentraci proteinů (JELÍNEK *et* KOUDELA, 2003; REECE, 2011). Filtrace probíhá přes filtrační bariéru tvořenou souborem endotelových buněk, podocytů a trojvrstevnou bazální membránou (TICHÝ *et al.*, 2004). Hydrostatickým tlakem krve, který je vyrovnáván osmotickým tlakem koloidů plazmy a hydrostatickým tlakem tekutiny v pouzdře ledvinného tělíska, se vytváří glomerulární filtrát (JUNQUEIRA *et al.*, 1997). Tvorba glomerulárního filtrátu se měří v ml/min, nazývá se rychlost glomerulární filtrace (GFR) a je ovlivněna změnou průsvitu přívodné nebo odvodné tepénky. Rozšíření přívodné tepénky má za následek zvýšení přítoku krve do glomerulu, zvýšení hydrostatického tlaku, a tím dochází k vyšší filtraci. Zúžení odvodné tepénky zvyšuje glomerulární hydrostatický tlak. Tyto dva mechanismy, udržující glomerulární filtraci, souvisí s autoregulací velikosti glomerulární filtrace a průtokem krve ledvinou. Ledviny mají dvě kapilární sítě s protichůdnou funkcí. Glomerulus je vysokotlaký systém usnadňující filtraci a peritubulární kapiláry jsou nízkotlaký systém usnadňující resorpci (REECE, 2011).

Mesangiální buňky, nacházející se mezi kličkami kapilár glomerulu, se vyznačují fagocytární schopností, dále se podílejí na odstraňování reziduí po filtraci primární moče a na obnově bazálních membrán (TICHÝ *et al.*, 2004).

2.4.1.2 Tubulární resorpce a sekrece

Dochází k zachování ještě upotřebitelných látek a vyloučení látek nepotřebných (JELÍNEK *et* KOUDELA, 2003). Z pouzdra ledvinného tělíska se filtrát dostává do tubulů, kde se z něho změnou složení stává tubulární tekutina (REECE, 2011).

V proximálním tubulu dochází k resorpci glukózy, aminokyselin, chloridu sodného a vody (JUNQUEIRA *et al.*, 1997). Absorbují se zde až dvě třetiny glomerulárního filtrátu (SUCKOW *et al.*, 2012). Rychlost absorpce u dospělého králíka je 1 ml/mm/min a u juvenilního 0,3 ml/mm/min (BREWER, 2006). K absorpci zbylého množství proteinu z filtrátu dochází pinocytózou (JUNQUEIRA *et al.*, 1997;

JELÍNEK *et* KOUDELA, 2003). Z intersticiální plazmy dochází k sekreci kreatininu a některých cizorodých látek do filtrátu (JUNQUEIRA *et al.*, 1997).

Na resorpci vody se podílí Henleova klička principem protiproudového multiplikačního systému. Vzestupné raménko nepropouští vodu, naopak sestupné raménko je pro vodu volně propustné. Chloridové ionty jsou ve vzestupném raménku aktivně přenášeny z tubulu do intersticia, kam jsou pasivně sledovány sodíkem. V tomto místě vznikne gradient hypertonicity, který je nezbytný pro koncentraci moči, a voda začne unikat přes permeabilní stěnu sestupného raménka. Celý proces se stále opakuje a dochází ke koncentraci moči, která se stává hypertonickou (TICHÝ *et al.*, 2004).

V distálním tubulu dochází k aktivní resorpci sodíku, vody a vylučování draslíku, vodíkových a amoniových iontů (JUNQUEIRA *et al.*, 1997; TICHÝ *et al.*, 2004).

Sběrací kanálky slouží k pasivnímu transportu moči, vytvoření konečného objemu a úpravě koncentrace elektrolytů (JELÍNEK *et* KOUDELA, 2003).

2.4.2 Endokrinní systém ledvin

Endokrinní systém, též označován jako juxtaglomerulární aparát, je lokalizován na cévním pólu ledvinného tělíska (TICHÝ *et al.*, 2004; EURELL *et* FRAPPIER, 2006). Je tvořen juxtaglomerulárními buňkami ve střední vrstvě přívodné tepénky glomerulu, buňkami *macula densa* distálního tubulu a mesangiálními buňkami (TICHÝ *et al.*, 2004).

Před vstupem do glomerulu jsou hladkosvalové buňky stěny přívodných tepének nahrazeny buňkami myoepiteliálního charakteru, které se označují jako juxtaglomerulární buňky (MARVAN *et al.*, 1998). Cytoplazma těchto buněk je granulovaná a mají oválná jádra (JUNQUEIRA *et al.*, 1997). Produkují enzym renin štěpící glykoprotein angiotenzinogen na angiotenzin I, který se přeměňuje na aktivní angiotenzin II ovlivňující krevní tlak (JUNQUEIRA *et al.*, 1997; MARVAN *et al.*, 1998; JELÍNEK *et* KOUDELA, 2003). Produkce reninu je regulována krevním tlakem v přívodné tepénce, změnou koncentrace tekutiny obsažené v distálním tubulu v místě buněk *macula densa*, které mají charakter chemoreceptoru, a stimulací sympatiku (JELÍNEK *et* KOUDELA, 2003; TICHÝ *et al.*, 2004).

Buňky juxtaglomerulárního aparátu dále produkují erythropoetin, jež urychluje zrání erytroblastů v kostní dřeni. Produkci tohoto hormonu ovlivňuje pokles parciálního tlaku kyslíku v krvi (JELÍNEK *et* KOUDELA, 2003).

Ve dřeni a částečně v kůře se tvoří prostaglandiny. Jejich syntézu stimuluje negativní sodíková bilance a pokles objemu mimobuněčných tekutin. Prostaglandin E stimuluje transport sodíku a uvolňování reninu (JELÍNEK *et* KOUDELA, 2003).

2.5 Embryonální vývoj ledvin

Embryonální vývoj močového a pohlavního ústrojí probíhá ve vzájemné souvislosti. Močové ústrojí se zakládá dříve než ústrojí pohlavní (MARVAN *et al.*, 1998). K vývoji ledvin dochází ze středního mesodermu přes 3 vývojová stádia: pronefros, mezonefros a metanefros (LITTLE *et* MCMAHON, 2012). První dvě stádia jsou u savců přechodná a dávají vzniku metanefrickým ledvinám (SEELY, 2017).

2.5.1 Pronefros

Pronefros (předledviny) se zakládají v době plošného rozestření zárodku do zárodečného terčíku a vyvíjí se z krčních a hrudních nefrotomů (MARVAN *et al.*, 1998). Na dorsální ploše nefrotomů vypučí buněčný pupen, který směřuje k ektodermu vrůstajícimu do okolního mesenchymu. Rozestoupením buněk vzniká uvnitř nefrotomu dutinka pokračující do základu pupenu, a tím vznikne kanálek předledvin. Dutinka nefrotomu se do céloru otevírá otvorem (nefrostoma). Slepé konce pupenů se kaudálně stáčí a postupně se spojují do podélného párového buněčného pruhu. Oba pruhy se protahují kaudálním směrem, postupně luminují a ústí do kloaky jako vývod předledvin, na který jsou napojeny všechny kanálky předledvin vyrostlé z nefrotomů (HORKÝ *et* MIKYSKA., 1984). Od dorsální aorty proniká ke každému kanálku předledviny céva, která se stáčí do klubička. To se vtlačuje do splachnopleury a vyklene ji do podoby zevního glomerulu, nebo se vtlačuje do stěny kanálku a vyklene ji do podoby vnitřního glomerulu (HORKÝ *et* MIKYSKA., 1984; KOCIÁNOVÁ *et* TICHÝ, 2014). Kanálky v kraniálních nefrotomech se rozpadají v mezenchym a pro další vývoj zůstávají zachovány kaudální konce vývodů ústících do kloaky, ze kterých se stane Wollfův vývod (HORKÝ *et* MIKYSKA., 1984; SEELY, 2017).

2.5.2 Mezonefros

Mezonefros (prvoledviny) se vyvíjejí z nefrotomů v hrudní až kraniální bederní oblasti tělní dutiny. Tvoří se z mezonefrogenního blastému vzniklého splnutím nefrotomů v jednotný párový, souběžně probíhající buněčný pruh, který leží mediálně od zachovaného vývodu kanálku pronefros. Blastém se v kraniokaudálním směru postupně zaškrucuje v kulovité buněčné uzly, které jsou uloženy růžencovitě za sebou. Počet uzlů je vyšší než počet nefrotomů, ze kterých vznikl nefrogenní blastém. Uvnitř každého uzlu se vytváří dutinka a vzniká váček, ze kterého vystupuje dorsolaterálně buněčný čep, který luminizuje a napojí se na zachovalý kanálek pronefros a stává se vývodem prvoledvin (Wolffův vývod). Soubor kanálků tvoří podélnou lištu (urogenitální lišta), táhnoucí se po obou stranách budoucí páteře (HORKÝ *et* MIKYSKA., 1984). Mezonefrické kanálky se esovitě prohýbají a prodlužují se. Urogenitální lišta se podélným zářezem rozdělí na mediální část, která je základem pro vývoj vaječníku a varlete, a laterální část vyplněnou souborem prvoledvin. Na kanálcích mezonefros dochází k další diferenciaci. Ke každému rozšířenému počátku kanálku vrůstá od dorsální aorty céva. Ta se stáčí do klubička a vtlačuje se do váčku, který se tak přemění ve dvojlistý pohárek (pouzdro ledvinného tělíska), do něhož je vtlačeno klubičko cév (glomerulus). Tak vzniká primitivní ledvinné tělísko. První část mezonefrického kanálku (*tubulus secretorius*) je vystlána jednovrstevným cylindrickým epitelem se sekreční funkcí a druhá část (*tubulus collectivus*) postrádá sekreční vlastnosti (HORKÝ *et* MIKYSKA., 1984; KOCIÁNOVÁ *et* TICHÝ, 2014). Druhá část kanálku ústí do Wolffova vývodu, který se stává primitivním močovodem ústícím do ventrální části kloaky (HORKÝ *et* MIKYSKA., 1984). U mezonefros dochází k zániku kraniální části, která se rozpadá v mezenchym a zachovává se pouze kaudální část s Wolffovým vývodem, ztrácí spojení s močovým systémem a později se stává součástí genitálního systému. (HORKÝ *et* MIKYSKA., 1984; KOCIÁNOVÁ *et* TICHÝ, 2014).

2.5.3 Metanefros

Metanefros jsou definitivní ledvinou vyvíjející se ze dvou základů: metanefrogenního blastému a ureterového pupenu. Metanefrogenní blastém vzniká

splynutím křížových nefrotomů v buněčný val, z něhož se vyvíjejí nefrony (HORKÝ *et* MIKYSKA., 1984; LITTLE *et* MCMAHON, 2012). Před vyústěním do kloaky se z Wolffova vývodu dorsálně formuje vychlipka, která se protahuje nad kloaku, kde vytváří tzv. ureterový pupen, který se pod páteří obrací kraniálně k metanefrogennímu blastému. Z rozšířeného konce pupenu se formuje primitivní ledvinná pánvička, která vrůstá do metanefrogenního blastému. Tímto dojde ke spojení obou základů ledviny, které spolu později srůstají. Ze zbytku ureterového pupenu vzniká močovod. Z primitivní ledvinné pánvičky se do metanefrogenního blastému paprskovitě vychlipují trubičkovité výběžky, které představují primitivní sběrací kanálky. Na periferní konce kanálků nasedá blastém jako čepička (HORKÝ *et* MIKYSKA., 1984; KOCIÁNOVÁ *et* TICHÝ, 2014; OXBURGH *et al.*, 2017). Sběrací kanálky se bohatě větví a tvoří síť prorůstající blastémem, který obrůstá jednotlivé úseky primitivních sběracích kanálků a tvoří základ ledvinných pyramid. Na jejich hrotech v místě budoucí papily vyúsťují papilární vývody do primitivní pánvičky. Primitivní pyramidy se rozpadají, a tím na povrchu vzniká rozdělení na lalůčky. Vrstvy spolu splývají a je vytvořena jednotná papila (HORKÝ *et* MIKYSKA., 1984).

Močotvorná část se vyvíjí z blastému, který se později rozpadá na velké množství okrouhlých buněčných skupinek nasedajících na konečné větvení vývodných kanálků. Ve skupinách se tvoří dutinky a útvar má podobu kulovitěho váčku, z jehož stěny se začne vychlipovat základ močového kanálku, který se napojí na vývodný kanálek. Slepý konec tepénky prorůstající ke každému váčku se rozpadá v glomerulus, který se vtlačí do váčku a vzniká definitivní ledvinné tělísko. Močový kanálek se esovitě prohýbá a narůstá do délky. Počáteční úsek se zprohýbá, střední úsek se napřimuje a prochází směrem do budoucí dřeně, kde se ohýbá a vrací zpět k ledvinnému tělísku. Konečný úsek se opět zprohýbá a napojuje se do sběracího kanálku. V jednotlivých úsecích močového kanálku se postupně diferencuje epiteliální výstelka (HORKÝ *et* MIKYSKA, 1984).

Z okolního mezenchymu se zakládá tukové a vazivové pouzdro ledviny. Základ ledvin vzniká retroperitoneálně v oblasti sakrálních nefrotomů a později se dostávají do definitivní kraniálnější polohy (HORKÝ *et* MIKYSKA, 1984).

3. MATERIÁL A METODY

3.1 Experimentální zvířata a odběr vzorků

Sledování bylo provedeno na 42 králících plemene novozélandský bílý. Ve věku 0, 5, 10, 14, 19, 27 a 32 dní byli králíci zváženi, dle platné legislativy usmrceni a vypitváni. Po vyjmutí byla každá ledvina zvážena, změřena a vložena do nádoby s 10% pufovaným formalínem.

3.2 Histologické zpracování vzorku

Po dostatečném profixování byly vzorky ledvin přikrojeny, vloženy do kazet, propláchnuty (1x H₂O, 2x etanol - 60%, 96%), následně odvodněny a prosyceny parafínem pomocí multifunkčního tkáňového procesoru KOS. Po prosycení byly vzorky ledvin vyjmuty z kazet, vloženy do zalévacích forem a na parafínové lince (Leica HistoCore Arcadia H) vytvořeny parafínové bloky. Po upevnění parafínových bloků do držáku rotačního mikrotomu (Leica 2235) byly nařezány řezy (4 μm), které se po napnutí na vodní lázni přilepily na podložní skla. Skla s řezy se inkubovala přes noc v termostatu o teplotě 37 °C. Druhý den následovalo obarvení řezů hematoxylinem a eozinem (HE) dle postupu:

- Odparafinování a zavodnění řezů:
 - 3x xylen – 5 min.,
 - 1x xylen a 99,9% etanol – 5 min.,
 - 2 lázně 95% etanol – 5 min.,
 - 2x 96% etanol – 5 min.,
 - 1x 70% etanol – 5 min.,
 - 1x 50% etanol – 5 min.
- Vyprání ve vodovodní vodě – 5 min.
- Oplach destilovanou vodou – 5 min.
- Barvení hematoxylinem dle Kod'ouska – 10 min.
- Alkalizace vodovodní vodou – 3 min teplá, 5 min studená.
- Oplach destilovanou vodou – 5 min.
- Eozin ve vodě rozpustný 0,1% – 3 min.

- Alkohol 80% – 1 min.
- Alkohol 96% – dvě lázně po 1 min.
- Aceton – dvě lázně po 1 min.
- Aceton:xylen (1:1) – po 1 min.
- Xylen – dvě lázně po 1 min.
- Zamontování do montovacího média (Pertex).

3.3 Morfometrická analýza

Morfometrická analýza byla provedena pomocí mikroskopu Leica DM 2500, digitální kamery Leica DFC 320 a softwaru pro analýzu obrazu Leica IM 500 (Version 4.0). Analyzovaná ledvinná tělíska byla rozdělena do dvou kategorií: superficiální a juxtamedulární. U každého tělíska (n50/vzorek) byla změřena (obj. 40) délka, šířka, plocha a v 5 zorných polích (obj. 10) také jejich počet.

3.4 Statistické zpracování dat

Pro statistické vyhodnocení zjištěných dat byla použita analýza rozptylu (ANOVA) Tukeyův HSD test v programu Statistika 10 (StatSoft. Inc.). Základní statistická průkaznost byla akceptována na hladině významnosti $P < 0,05$.

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Morfometrické parametry ledvin v průběhu postnatálního období

Morfometrické údaje o ledvinách a jejich relativní hmotnost jsou důležitými parametry při různých farmakologických a toxikologických studiích (MICHAEL *et al.*, 2007). Znalosti o velikosti ledvin v různých obdobích postnatálního života jedinců jsou důležitým vodítkem při určení diagnózy a interpretaci výsledků experimentů (SANTOS-SOUSA *et al.*, 2015). Bylo prokázáno, že velikost ledvin je ovlivněna druhem, plemennou příslušností, věkem a faktory prostředí (AL-JEBORI *et al.*, 2014). Studie zabývající se morfometrickými parametry ledvin u králíků jsou ojedinělé a často prováděny u dospělých jedinců. U většiny savců jsou ledviny po narození morfologicky a funkčně nezralé (MALLIE *et* BOUDZOUYOU, 1996). V postnatálním období života ledviny prodělávají růstové a funkční změny, kterými se adaptují na mimoděložní život (SOLHAUG *et al.*, 2004). Např. VELARDE *et al.* (1995) uvádí, že ledviny novorozenců vykazují nízkou rychlost glomerulární filtrace, omezenou schopnost reabsorpce sodíku a koncentrace moči. Funkční zralost ledvin je závislá na řadě faktorů a u všech druhů zvířat následuje po morfologickém vývoji (SATLIN *et al.* 2003). V provedeném experimentu jsme se zaměřili na morfometrické a morfologické změny ledvin v období od narození do 32. dne věku (Obrázek 4).

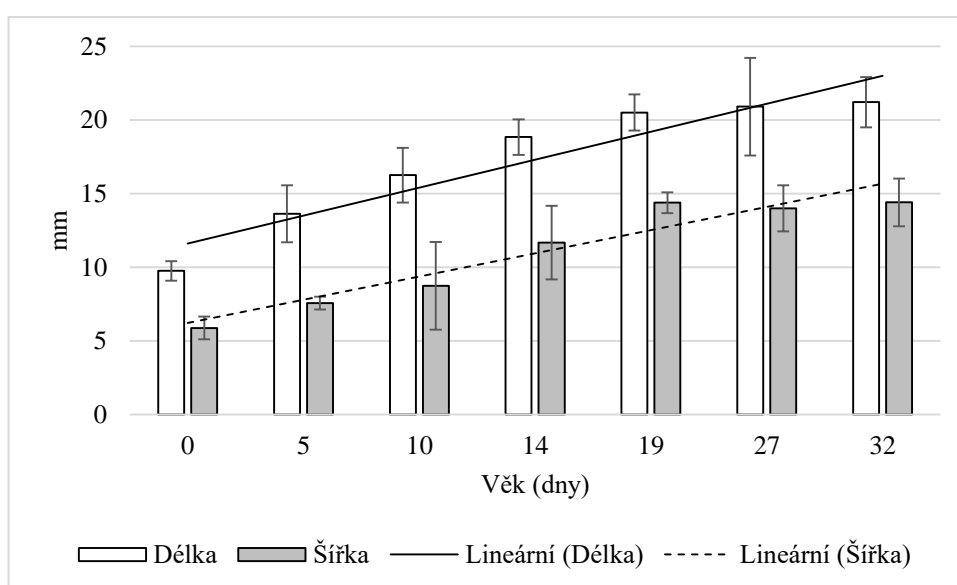
Obrázek 4: Makroskopický snímek ledvin v různém období postnatálního vývoje



Výsledky morfometrické analýzy délky a šířky ledvin jsou zobrazeny v grafu 1, tělesná hmotnost a průměrná hmotnost ledvin v tabulce 1. V průběhu sledovaného období oba měřené parametry vykazovaly vzestupnou tendenci.

U novorozených králíků byly ledviny $9,75 \pm 0,66$ mm dlouhé a $5,88 \pm 0,78$ mm široké, na konci sledovaného období dosahovaly průměrné délky $21,20 \pm 1,71$ mm a šířky $14,40 \pm 1,61$ mm. Rozdíly morfometrických parametrů mezi uvedenými obdobími byly statisticky významné ($P < 0,01$). V průběhu 32 dní došlo k nárůstu délky o 117,44 % a šířky o 144,90 %. Z grafu 1 je dále zřejmé, že k nejvyššímu vzestupu obou parametrů došlo v průběhu prvních 19 dní života (délka 110,26 %, šířka 144,56 %).

Graf 1: Délka a šířka ledvin v jednotlivých dnech věku



AL-JEBORI *et al.* (2014) uvádí u dospělých králíků téhož plemene průměrnou délku ledvin 31,11 mm a šířku 20,45 mm, DIMITROV *et al.* (2012) u 8 měsíčních králíků (2,8-3,2 kg) popisuje délku 37,04 mm a šířku 26,00 mm a SANTOS-SOUSA *et al.* (2015) u králíků o hmotnosti 2,0-2,3 kg změřil délku ledvin 31,31 mm a šířku 19,46 mm. Ledviny u námi sledovaných králíků byly na konci pozorování (Tabulka 1) oproti výše uvedeným údajům o 31,85 až 42,76 % kratší a 26,00 až 44,62 % užší. Uvedené rozdíly byly dány zejména odlišnou tělesnou hmotností králíků (32. den věku vážili pouze $479,90 \pm 40,49$ g). Vztah tělesné hmotnosti a hmotnosti ledvin dokládají i naše další výsledky (Tabulka 1).

Tabulka 1: Průměrná tělesná hmotnost a hmotnost ledvin

Věk (dny)	Tělesná hmotnost (g)	Hmotnost ledvin (g)
0	52,50 ± 9,69	0,25 ± 0,03
5	72,60 ± 20,14	0,80 ± 0,36
10	114,75 ± 21,78	0,93 ± 0,21
14	260,33 ± 48,55	1,51 ± 0,29
19	279,75 ± 45,27	2,02 ± 0,23
27	450,60 ± 8,99	2,19 ± 0,26
32	479,90 ± 40,49	2,40 ± 0,83

Z tabulky 1 je patrné, že se zvyšující se tělesnou hmotností vzrůstala i hmotnost ledvin. Tuto skutečnost také demonstrují jednak statisticky signifikantní rozdíl ($P < 0,01$) mezi hmotnostmi na začátku a konci sledovaného období a také vysoký korelační koeficient ($r_{xy} = 0,955$) mezi tělesnou hmotností a hmotností ledvin. Korelacemi mezi hmotnostními a metrickými parametry ledvin se zabývali u myši MURAWSKI *et al.* (2010). Podobně jako naše výsledky u králíků, tyto autoři prokázali pozitivní korelaci mezi velikostí ledvin a tělesnou hmotností myší. Další vztahy mezi jednotlivými měřeními a váženými parametry jsou uvedeny v tabulce 2. Mezi všemi parametry byly prokázány vysoké korelační koeficienty. Nejvyšší závislost byla shledána mezi délkou a šířkou, a naopak nejmenší mezi tělesnou hmotností a délkou ledvin.

Tabulka 2: Korelační koeficienty (r_{xy}) mezi jednotlivými parametry ledvin králíků

Parametry ledvin	Tělesná hmotnost			Délka
	Hmotnost	Délka	Šířka	Šířka
Korelační koeficient (r_{xy})	0,955	0,886	0,919	0,972

4.2 Postnatální změny v ledvinách králíka

U novorozených savců jsou ledviny morfologicky a funkčně nezralé (DODGE, 1997; SATLIN *et al.*, 2003). Základní morfologickou a funkční jednotkou ledvin je nefron. Vývoj nefronu začíná v prenatálním období a pokračuje po určitou dobu také

v postnatálním období jedince (BROWN *et al.*, 2016). Nové nefrony vznikají interakcí mezenchymálních progenitorových buněk a sběracích kanálků v nefrogenní zóně, která se nachází na periférii ledvin (LI *et al.*, 2014; OXBURGH *et al.*, 2017; SEELY, 2017). Histologicky se tato zóna jeví jako silně bazofilní oblast (MARQUEZ *et al.*, 2002). V nefrogenní zóně jsou populace buněk sběracího kanálku, čepičkovitá formace z mezenchymálních buněk, pretubulární agregáty, intersticiem nefrogenní zóny, hemoendoteliální progenitorové buňky a makrofágy (OXBURGH *et al.*, 2017). Přítomnost nefrogenní zóny je závislá na délce maturace nefronů u jednotlivých druhů zvířat a je tedy zachována různou dobu. BROWN *et al.* (2016) a MARQUEZ *et al.* (2002) pozorovali tuto zónu v ledvinách potkanů až do 15. dne jejich věku. Autoři dále uvádí, že v den narození potkanů vykazovala nefrogenní zóna nejintenzivnější bazofilii. V našem experimentu (Tabulka 3) jsme rovněž zaznamenali nejintenzivnější bazofilii nefrogenní zóny v ledvinách novorozených králíků, avšak rozlišitelná byla pouze do 10. dne věku.

Nefron v průběhu svého vývoje prochází čtyřmi stádii (I-IV), která probíhají v různých oblastech vyvíjející se ledviny (MARQUEZ *et al.*, 2002; BROWN *et al.*, 2016; SEELY, 2017). Méně vyvinuté nefrony (stádium I a II) se vyskytují v superficiální, subkapsulární oblasti ledvin, a oproti tomu více zralé nefrony (stádium III a IV) jsou uloženy hlouběji v juxtamedulární oblasti kůry (BROWN *et al.*, 2016). Nefron I. stádia, označovaný též jako nefrogenní váček (elipsoid) je struktura kruhového tvaru tvořená nediferencovanými cylindrickými epitelovými buňkami. Nefron II. stádia je již tubulózní struktura esovitého tvaru (esovitý kanálek), která sestává z nediferencovaných kubických epitelových buněk (ČUKURANOVIĆ *et al.*, 2015; BROWN *et al.*, 2016). Nefron III. stádia má již rozlišitelný glomerulus ledvinného tělíska a rovněž zřetelně patrnou diferenciaci tubulu. Kličky kapilár glomerulu jsou pokryty kubickými podocyty (DODGE, 1997). V tomto stádiu nefronu jsou již rozlišitelné jednotlivé části tubulu, které však nejsou stále zralé (buňky proximálního stočeného kanálku bez kartáčového lemu, krátké Henleovy kličky vystlané kubickým epitelem). Nefrony ve stádiu IV mají oproti stádiu III větší glomeruly, které jsou od zevního listu pouzdra ledvinného tělíska odděleny zřetelným močovým prostorem, nástěnný list je již pokryt jednovrstevným dlaždicovým epitelem a podocyty vykazují plošší tvar. Buňky proximálního tubulu mají na svém apikálním povrchu vytvořený kartáčový lem, Henleovy kličky jsou

delší a vystlány dlaždicovým epitelem (DODGE, 1997; BROWN *et al.*, 2016; SEELY, 2017).

Tabulka 3: Postnatální změny v ledvinách králíka

Věk (dny)		0	5	10	14	19	27	32
Kůra	Nefrogenní zóna	+	+	+	-	-	-	-
	Nefron typu I	+	+	+	-	-	-	-
	Nefron typu II	+	+	+	-	-	-	-
	Nefron typu III	+	+	+	+	+	-	-
	Nefron typu IV	+/-	+	+	+	+	+	+
Dřeň	Formování vnitřní a zevní zóny	-	-	+	-	-	-	-
	Zřetelná vnitřní a zevní zóna	-	-	-	+	+	+	+

+ přítomny, - nepřítomny, +/- ojediněle

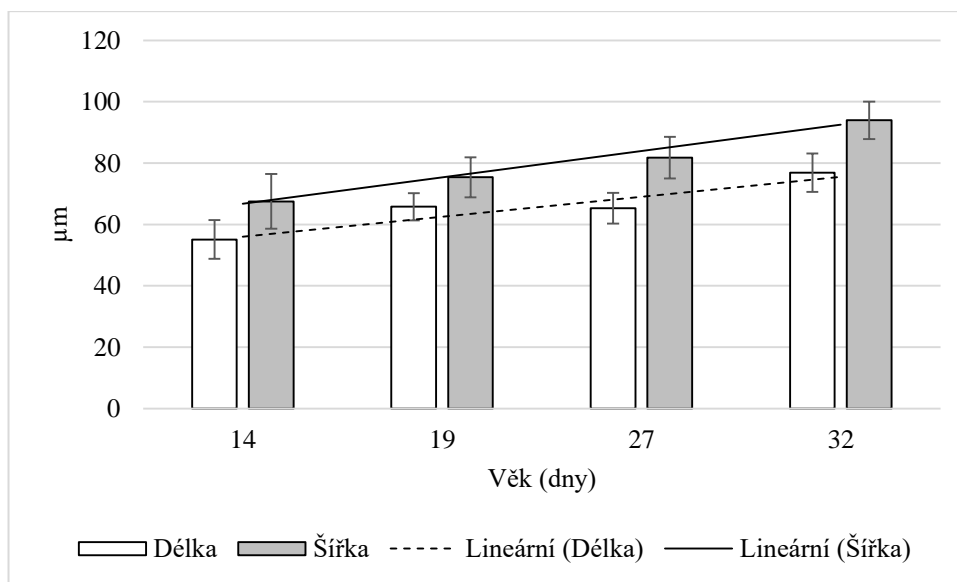
Zastoupení jednotlivých stádií nefronu v kůře ledvin králíků různého věku jsou zobrazena v tabulce 3. Z tabulky je zřejmé, že nefrony typu I a II byly pozorovány do 10. dne věku, což odráží také přítomnost nefrogenní zóny. Přítomnost nefronů typu I a II téměř odpovídá údajům u potkanů uváděných MARQUEZ *et al.* (2002) a BROWN *et al.* (2016), kteří tyto nefrony pozorovali do 7. dne věku a u 14denních jedinců zaznamenali nižší zastoupení nefronů typu III a převahu nefronů typu IV. Oproti potkanům se u králíků vyskytovaly nefrony typu III až do 19. dne věku.

V literárním přehledu je uvedeno, že u dospělých jedinců se dřeň ledvin dělí na zevní a vnitřní zónu (EURELL *et FRAPPIER*, 2006; SUCKOW *et al.*, 2012; KEEBLE *et BENATO*, 2013). MARQUEZ *et al.* (2002) u novorozených potkanů popisuje dřeň ledviny jako silně neuspořádanou oblast, ve které není možno odlišit zevní a vnitřní zónu. Naše zjištění u novorozených králíků zcela odpovídá popisu MARQUEZ *et al.* (2002). Počátek diferenciacie dřeň ledvin na dvě zóny jsme zaznamenali u 10denních králíků a rozlišitelné zóny u 14denních králíků (Tabulka 3). Oproti nám MARQUEZ *et al.* (2002) rozlišil tyto zóny u potkanů již mezi 8. až 10. dnem věku.

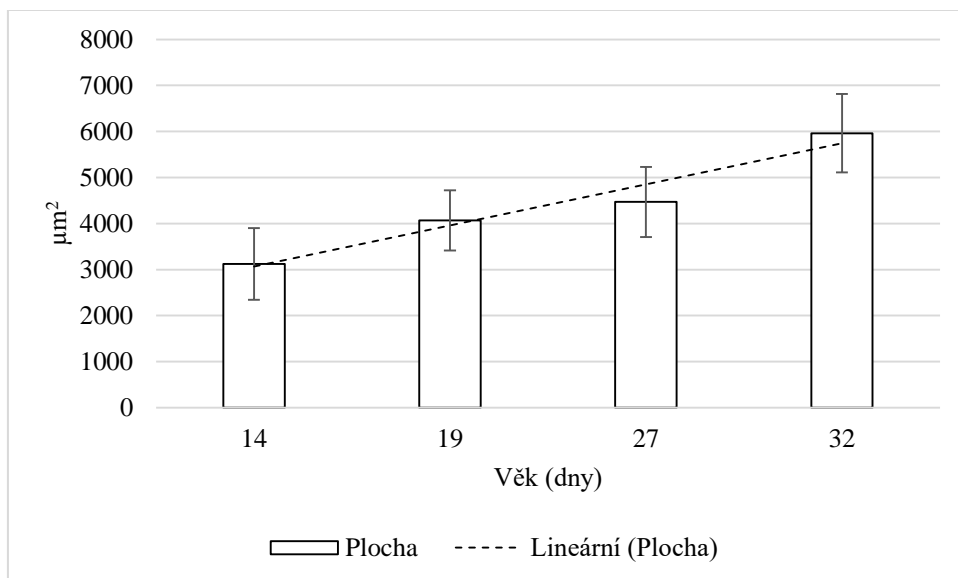
V rámci práce jsme se dále zaměřili na morfometrické parametry ledvinných tělísek a jejich počet. V závislosti na zralosti nefronů byly do výsledků této práce zařazeny pouze údaje králíků v období od 14. dne do 32. dne.

NOVOTNÝ *et al.* (1966) uvádí průměrnou velikost ledvinných tělísek 120 μm a MAEZAWA *et al.* (2013) 150 μm . Průměrné hodnoty měřených parametrů (délka, šířka, plocha) ledvinných tělísek králíků jsou zobrazeny v grafu 2 a 3.

Graf 2: Průměrná délka a šířka ledvinného tělíska



Graf 3: Průměrná plocha ledvinných tělísek



U 14denních jedinců byla ledvinná tělíska 55,10±6,32 μm dlouhá, 67,51±8,91 μm široká a jejich plocha měla 3125,25±778,99 μm^2 . Ve 32 dnech pak

byla průměrná délka $76,90 \pm 6,26 \mu\text{m}$, šířka $93,96 \pm 6,10 \mu\text{m}$ a plocha $5963,06 \pm 851,05 \mu\text{m}^2$. Mezi sledovanými obdobími byly u všech parametrů shledány signifikantní rozdíly ($P < 0,01$).

V uvedených grafech (2, 3) je možné pozorovat dynamiku změn velikosti ledvinných tělísek v období od druhého týdne do 32. dne života. Z grafů je zřejmé, že podobně jako v případě tělesné hmotnosti a hmotnost ledvin (Tabulka 1) se s přibývajícím věkem králíků zvyšovaly (mimo délky 27. den) všechny měřené parametry. Z tohoto důvodu byly mezi hmotnostními a morfometrickými parametry ledvinných tělísek vypočítány korelační koeficienty, které doložily relativně těsný vztah mezi morfometrickými parametry a hmotností ledvin a o něco volnější vztah u tělesné hmotnosti (Tabulka 4).

Tabulka 4: Korelační koeficienty (r_{xy}) mezi hmotností ledvin, tělesnou hmotností a morfometrickými parametry ledvinných tělísek králíků

Parametr	Hmotnost ledviny			Tělesná hmotnost		
	Délka	Šířka	Plocha	Délka	Šířka	Plocha
Ledvinné tělísko	0,945	0,941	0,933	0,776	0,908	0,863
Superficiální	0,961	0,958	0,947	0,758	0,898	0,849
Juxtamedulární	0,918	0,917	0,916	0,786	0,917	0,872

Dle AL-JEBORI *et al.* (2014) a OLIVETTI *et al.* (1977, 1980) se velikost ledvinných tělísek liší v závislosti na jejich uložení. Autoři také uvádí, že v juxtamedulární oblasti ledvin jsou ledvinná tělíska oproti střední a superficiální oblasti kůry větší. Uvedená tvrzení dokládají i naše výsledky (Tabulka 5).

Tabulka 5: Morfometrické parametry ledvinných tělísek v různých oblastech ledvin

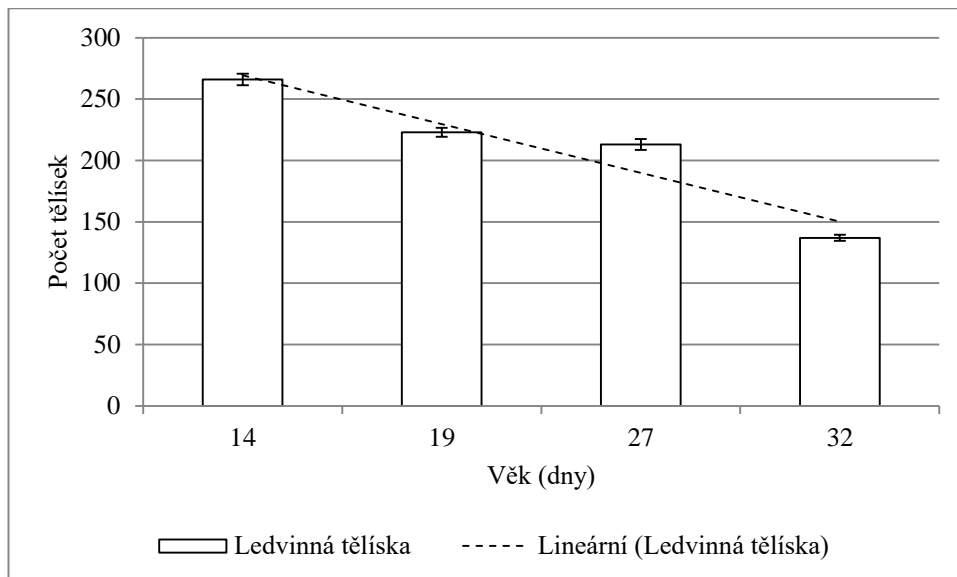
Kůra	Věk	Parametr	x	sx	Min	Max	Med
Superficiální	14	Délka (μm)	48,78	6,45	34,62	68,05	48,79
		Šířka (μm)	58,60	7,04	41,67	71,98	59,86
		Plocha (μm^2)	2346,26	422,51	1114,62	3582,42	2348,71
	19	Délka (μm)	61,29	9,57	40,89	82,98	61,39
		Šířka (μm)	68,89	8,41	43,48	88,07	69,39
		Plocha (μm^2)	3412,98	744,78	1746,37	5066,95	3410,52
	27	Délka (μm)	60,32	8,70	37,43	84,79	59,40
		Šířka (μm)	74,97	10,99	55,04	105,05	73,09
		Plocha (μm^2)	3708,72	847,89	2076,90	5941,69	3647,22
	32	Délka (μm)	70,64	11,13	46,25	96,19	71,34
		Šířka (μm)	87,86	14,16	51,81	118,27	85,21
		Plocha (μm^2)	5112,01	1310,93	2399,89	7962,85	5085,95
Juxtamedulární	14	Délka (μm)	61,41	10,42	44,97	104,18	59,96
		Šířka (μm)	76,42	10,51	59,08	112,84	76,30
		Plocha (μm^2)	3904,24	1162,24	2326,72	9288,96	3730,48
	19	Délka (μm)	70,25	12,35	48,73	98,48	67,86
		Šířka (μm)	81,91	13,22	55,17	117,96	80,35
		Plocha (μm^2)	4724,75	1413,40	2401,85	8821,99	4543,76
	27	Délka (μm)	70,25	12,38	51,42	108,25	66,84
		Šířka (μm)	88,57	15,86	50,61	125,20	87,67
		Plocha (μm^2)	5227,99	1597,80	2157,90	10097,80	4873,60
	32	Délka (μm)	83,16	12,36	61,22	110,62	81,15
		Šířka (μm)	100,05	13,25	79,59	129,80	98,18
		Plocha (μm^2)	6814,11	1322,29	4428,75	11607,05	6706,44

x - průměr, sx - směrodatná odchylka, Min - minimum, Max - maximum, Med - medián

MURAWSKI *et al.* (2010) pozorovali v ledvinách myši, že se snižujícím se počtem nefronů roste jejich velikost. V grafu 4 jsou zobrazeny průměrné počty ledvinných tělísek. Oproti morfometrickým parametrům (Graf 2,3), byl u průměrného počtu ledvinných tělísek shledán opačný trend. Mezi plochou

a počtem ledvinných tělísek byl také zjištěn záporný korelační koeficient ($r_{xy} = -0,997$). Naše výsledky tedy souhlasí s autory MURAWSKI *et al.* (2010).

Graf 4: Postnatální změny průměrného počtu ledvinných tělísek



5. ZÁVĚR

Tato práce se zabývala změnou morfometrických a histologických parametrů ledvin králíků do věku 32 dní. Z výsledků práce vyplývají tyto závěry:

- U novorozených králíků dosahovala průměrná délka ledvin $9,75 \pm 0,66$ mm a šířka $5,88 \pm 0,78$ mm. V průběhu 32 dní došlo k nárůstu délky o 117,44 % ($21,2 \pm 1,71$ mm) a šířky o 144,90 % ($14,4 \pm 1,61$ mm).
- K nejvýraznějšímu nárůstu délky a šířky ledvin došlo v průběhu prvních 19 dní života (délka 110,26 %, šířka 144,56 %).
- Se vzrůstající tělesnou hmotností jedince se během sledovaného období zvyšovala hmotnost ledvin ($r_{xy} = 0,955$). Průměrná hmotnost ledvin při narození byla $0,25 \pm 0,03$ g a 32. den $2,40 \pm 0,83$ g.
- Nejvyšší závislost byla shledána mezi délkou a šířkou ($r_{xy} = 0,972$) a naopak nejmenší mezi tělesnou hmotností a délkou ledvin ($r_{xy} = 0,886$).
- Nefrogenní zóna kůry byla pozorována do věku 10 dní.
- Nefrony I. a II. typu byly pozorovány do 10. dne a nefrony typu III se vyskytovaly do věku 19 dní.
- Počátek diferenciaci dřeně na vnitřní a vnější zónu byl zaznamenán u 10denních králíků.
- Dřeň u králíků starých 14 dní měla plně rozlišitelné zóny.
- Průměrná délka ledvinných tělísek u 14denních králíků byla $55,10 \pm 6,32$ μm , šířka $67,51 \pm 8,91$ μm a jejich plocha měla $3125,25 \pm 778,99$ μm^2 . Ve 32 dnech dosahovala délky $76,90 \pm 6,26$ μm , šířky $93,96 \pm 6,10$ μm a plochy $5963,06 \pm 851,05$ μm^2 .
- Mezi hmotností ledvin a morfometrickými parametry ledvinných tělísek byly zjištěny vysoké korelační koeficienty.
- Ledvinná tělíska v juxtamedulární oblasti byla větší než ve střední a superficiální.
- Mezi plochou a počtem tělísek byl shledán záporný korelační koeficient ($r_{xy} = -0,997$).

6. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Řez králičí ledvinou	12
Obrázek 2: Popis juxtamedulárního a superficiálního nefronu	14
Obrázek 3: Ledvinné tělísko	15
Obrázek 4: Makroskopický snímek ledvin v různém období postnatálního vývoje	28

7. SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Průměrná tělesná hmotnost a hmotnost ledvin.....	30
Tabulka 2: Korelační koeficienty (r_{xy}) mezi jednotlivými parametry ledvin králíků	30
Tabulka 3: Postnatální změny v ledvinách králíka	32
Tabulka 4: Korelační koeficienty (r_{xy}) mezi hmotnostmi ledvin, tělesnou hmotností a morfometrickými parametry ledvinných tělísek králíků	34
Tabulka 5: Morfometrické parametry ledvinných tělísek v různých oblastech ledvin	35

8. SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Délka a šířka ledvin v jednotlivých dnech věku.....	29
Graf 2: Průměrná délka a šířka ledvinného tělíška	33
Graf 3: Průměrná plocha ledvinných tělísek.....	33
Graf 4: Postnatální změny průměrného počtu ledvinných tělísek	36

9. SEZNAM ZKRATEK

GFR Rychlost glomerulární filtrace

HE Hematoxylin-eosin

H₂O Voda

PCT Stočená část proximálního tubulu

PCT-S1 První segment proximálního tubulu

PCT-S2 Druhý segment proximálního tubulu

PCT-S3 Třetí segment proximálního tubulu

PST Přímá část proximálního tubulu

10. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. AL-JEBORI, J. G. A., AL-BADRI, A. M. S., JASSIM, B. A. (2014): Study the anatomical and histomorphological description of the kidney in adult white rabbits female „new zeland strain“. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 3(6): 40-51.
2. BACHA, W. J., BACHA, L. M. (2000): Color Atlas Of Veterinary Histology. 2nd edition. USA: Lippincott Williams & Wilkins. 318 p. ISBN 0683306189.
3. BREWER, N. (2006): Biology of the rabbit. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 45(1): 8-24.
4. BROWN, D. L., WALLING B. E. MATTIX M. E. (2016): Urinary system. In: PARKER, G. A., PICUT, C. A.: Atlas of Histology of the Juvenile Rat. Academic Press, 395-421 p. ISBN 9780128026823.
5. ČERVENÝ, Č. (1998): Veterinární anatomie, Splanchnologia. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. 133 s. ISBN 8085114313.
6. ČUKURANOVIĆ, R., VLAJKOVIĆ, S. (2005): Age related anatomical and functional characteristics of human kidney. *Medicine and Biology*. 12(5): 61-69.
7. DIMITROV, R., KOSTOV, D., STAMATOVA, K., YORDANOVA, V. (2012): Anatomotopographical and morphological analysis of normal kidneys of rabbit (*Oryctolagus Cuniculus*). *Trakia Journal of Sciences*. 10(2): 79-84.
8. DODGE, A. H., (1997): Introduction: review of microscopic studies on fetal and neonatal kidney. *Microscopy Research and Technique* 39:205-210.
9. DYCE, K. M., SACK, W. O., WENSING, C. J. G. (2010): Textbook of Veterinary Anatomy. 4th edition. St. Louis: Saunders Elsevier. 834 p. ISBN 9781416066071.
10. EURELL, J. A., FRAPPIER, B. L.: (2006): Dellmann's Textbook of Veterinary Histology. 6th edition. USA: Blackwell Publishing. 405 p. ISBN 0781741483.
11. HARCOURT-BROWN, F. (2002): Textbook of Rabbit Medicine. Butterworth-Heinemann. 436 p. ISBN 9780750640022.
12. HORKÝ, D., MIKYSKA, E. (1984): Veterinární embryologie. Praha: Vysoká škola veterinární v Brně. 191 s. ISBN 8085114844.

13. JELÍNEK, P., KOUDELA, K. (2003): Fyziologie hospodářských zvířat. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. 414 s. ISBN 8071576441.
14. JUNQUEIRA, L. C. U., CARNEIRO, J., KELLEY, D. H. (1997): Základy histologie. 7. vydání. Jinočany: H&H, 501 s. ISBN 8085787377.
15. KEEBLE, E., BENATO, L. (2013): Urinary tract surgery. In: HARCOURT-BROWN, F., CHITTY, J.: BSAVA Manual of Rabbit Surgery, Dentistry and Imaging. British Small Animal Veterinary Association. 448 p. ISBN 9781905319411.
16. KNOTEK, Z., MÍŠEK, I., ČERVENÝ, Č., RAJTOVÁ, V. (1999): Chov a využití pokusných zvířat, II. díl. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. 140 s. ISBN 8085114690.
17. KOCIÁNOVÁ I., TICHÝ F. (2014): Embryology - Basics of Embryology for Veterinary Medicine Students. Brno: University of veterinary and pharmaceutical sciences. Department of anatomy, histology and embryology. 259 p. ISBN 9788073057374.
18. KÖNIG H. E., LIEBICH, H. G. (2004): Veterinary Anatomy of Domestic Mammals: Textbook and Colour Atlas. Schattauer; 681 p. ISBN 3794521013.
19. KRIZ, W., KAISLING B. (2013): Structural Organization of the Mammalian Kidney. In: ALPERN, R., CAPLAN, M., MOE, O. W.: Seldin and Giebisch's The Kidney. 595-691.
20. KUEHNEL, W. (2003): Color Atlas of Cytology, Histology and Microscopic Anatomy. 4th edition. Stuttgart: Thieme. 542 p. ISBN 3135624048.
21. LI, W., HARTWIG, S., ROSENBLUM, N. D. (2014): Developmental origins and functions of stromal cells in the normal and diseased mammalian kidney. *Developmental Dynamics*. 243: 853-863.
22. LITTLE, M. H., McMAHON, A. P. (2012): Mammalian Kidney Development: Principles, Progress, and Projections. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 4(5): a008300.
23. LOUIE, M. K., GAMBOA, A. J., CLAYMAN, R. V. (2009): In vivo models for ureteral stents. In: DENSTEDT, J., ATALA, A.: Biomaterials and Tissue Engineering in Urology. Woodhead Publishing. 592 p. ISBN 9781845694029.
24. LÜLLMANN-RAUCH, R. (2012): Histologie. 3. vydání. Praha: Grada Publishing. 576 s. ISBN 9788024737294.

25. MAEZAWA, Y., CINA, D., QUAGGIN, S. E. (2013): Glomerular Cell Biology. In: ALPERN, R., CAPLAN, M., MOE, O. W.: Seldin and Giebisch's The Kidney. 721–755.
26. MALLIE, J. P., BOUDZOUMOU, P. (1996): Functional renal maturation in rat neonates after prenatal exposure to furosemide. *Pediatric Nephrology*. 10: 458-460.
27. MARQUEZ, M. G., CABRERA, I., SERRANO, D. J., STERIN-SPEZIALE, N. (2002): Cell proliferation and morphometric changes in the rat kidney during postnatal development. *Anatomy and embryology*. 205(5-6): 431-440.
28. MARVAN, F., HAMPL, A., HLOŽÁNKOVÁ, E., KRESAN, J., MASSANYI, L., VERNEROVÁ, E. (1998): Morfologie hospodářských zvířat. 2. vydání Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze a Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. 328 s. ISBN 8020902732.
29. MESCHER, A. L. (2013): Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas. 13th edition. McGraw-Hill Education. 480 p. ISBN 9780071807203.
30. MICHAEL, B., YANO, B., SELLERS, R. S., PERRY, R., MORTON, D., ROOME, N., JOHNSON, J. K., SCHAFER, K., PITSCH, S. (2007): Evaluation of organ weights for rodent and non-rodent toxicity studies: a review of regulatory guidelines and a survey of current practices. *Toxicologic Pathology*. 35(5):742-50.
31. MURAWSKI, I. J., MAINA, R. W., GUPTA, I. R. (2010): The relationship between nephron number, kidney size and body weight in two inbred mouse strains. *Organogenesis*, 6(3): 189-194.
32. NAJBRT, R., BEDNÁŘ, K., ČERVENÝ, Č., KAMAN, J., MIKYSKA, E., ŠTARHA, O. (1982): Veterinární anatomie 2. díl. Praha: Státní zemědělské nakladatelství. 594 s.
33. NOVOTNÝ, E., BÖHM, R., GEISSEL, V., HOLMAN, J. (1966): Veterinární histologie. Praha: Státní zemědělské nakladatelství. 637 s.
34. OLIVETTI, G., ANVERSA, P., MELISSARI, M., LOUD, A. V. (1980): Morphometry of the renal corpuscle during postnatal growth and compensatory hypertrophy. *Kidney International*. 17: 438-454.
35. OLIVETTI, G., ANVERSA, P., RIGAMONTI, W., VITALI-MAZZA, L., LOUD, A. V. (1977): Morphometry of the renal corpuscle during normal

- postnatal growth and compensatory hypertrophy. A light microscope study. *The Journal of Cell Biology*. 75: 573-585.
36. OXBURGH, L., MUTHUKRISHNAN, S. D., BROWN, A. (2017): Growth factor regulation in the nephrogenic zone of the developing kidney. In: MILLER, R.: *Kidney Development and Disease. Results and Problems in Cell Differentiation*. 137-164.
 37. REECE, W. (2011): *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. 2. vydání. Praha: Grada Publishing, 480 s. ISBN 9788024732824.
 38. SAMUELSON, D. A. (2007): *Textbook of Veterinary Histology*. Elsevier, St. Louis, 546 p.
 39. SANTOS-SOUSA, C. A., STOCCO, A. V., MENCALHA, R., JORGE, S. F., ABIDU-FIGUEIREDO, M. (2015): Morphometry and vascularization of the rabbit kidneys (*Oryctolagus Cuniculus*). *International Journal of Morphology*. 33(4): 1293-1298.
 40. SATLIN, L. M., WODA, C. B., SCHWARTZ, G. J. (2003): Development of function in the metanephric kidney. In: Vize, P. D., Woolf, A. S., Bard, J.: *The Kidney*. Cambridge. Academic Press, 267-325.
 41. SEELY, J. C. (2017): A brief review of kidney development, maturation, developmental abnormalities, and drug toxicity: juvenile animal relevancy. *Journal of Toxicologic Pathology*. 30: 125-133.
 42. SOLHAUG, M. J., BOLGER, P. M., JOSE, P. A. (2004): The developing kidney and environmental toxins. *Pediatrics*. 113(4 Suppl): 1084-1091.
 43. SUCKOW, M. A., STEVENS, K. A., WILSON, R. P. (2012): *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents*. United States of America: Academic Press. 1288 p. ISBN 0123809207.
 44. TICHÝ, F., HORKÝ, D., BUCHTOVÁ, M., GOROŠOVÁ, A., KOCIÁNOVÁ, I., PÁRAL, V., ZIBRÍN, M. (2004): *Histologie – Mikroskopická anatomie*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita. 275 s. ISBN 8073054957.
 45. TILLSON, M. D., TOBIAS, K. M. (2012): Kidneys. In: TOBIAS, K. M., JOHNSTON, S. A.: *Veterinary Surgery Small Animal. Volume Two*. Saunders Elsevier. 2332 p. ISBN 9781437707465.
 46. VELARDE, V., HUMPHREYS, J., FIGUEROA, C. D., VIO, C. P. (1995): Postnatal maturation of tissue kallikrein producing cells (connecting tubule

cells) in the rat kidney: a morphometric and immunohistochemistry study. *Anatomy and embryology*. 192(5): 407-414.

47. ZHUO, J. L., LI, X. C. (2013): Proximal nephron. *Comprehensive Physiology*, 3: 1079-1123.