

УДК 616.018.61

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК В СТАДИИ СТРУКТУРНЫХ НАРУШЕНИЙ СВЕТОВОГО ДЕСИНХРОНОЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Антонова В.М., Злобина О.В., Иванов А.Н., Бугаева И.О., Захарова Н.Б., Пучиньян Д.М.

ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, Саратов, e-mail: antonova.v.m@mail.ru

Проведен морфометрический анализ структурных изменений в почках белых нелинейных крыс-самцов. Животные разделены на две группы: контрольную, в которой крысы находились в естественных условиях освещения, и опытную, включающую крыс, которым моделировали световой десинхроноз в течение двадцати одних суток. В гистологических срезах почек, окрашенных гематоксилином и эозином, были определены размеры почечного тельца, капсулы Шумлянского – Боумена, собирательных трубочек, почечных канальцев и площадь клубочкового аппарата. Измерения производили с помощью медицинского микровизора проходящего света mVizo-103. Выявленное уменьшение площади сосудистого пучка и увеличение пространства между листками капсулы Шумлянского – Боумена, стаз эритроцитов в капиллярах клубочка, а также отек интерстициальной ткани свидетельствуют о негативном влиянии светового десинхроноза на морфофункциональное состояние почек.

Ключевые слова: световой десинхроноз, морфофункциональное состояние почек, микроциркуляция.

THE KIDNEYS MORPHOFUNCTIONAL STATE AT THE LIGHT-INDUCED DESYNCHRONOSIS STRUCTURAL DAMAGE STAGE IN EXPERIMENT

Antonova V.M., Zlobina O.V., Ivanov A.N., Bugaeva I.O., Zakharova N.B., Putchinyan D.M.

Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Saratov, e-mail: antonova.v.m@mail.ru

Morphological analysis of the kidneys structural changes was carried out on 24 white nonlinear male rats. The animals were divided into two groups: control group – rats were kept in natural light and experimental group, which contained rats exposed natural light in daytime and lamplight in night during 21 days. The sizes of the renal corpuscle, the capsule of Shumlyansky – Bowman, collecting duct, renal tubules and the area of the glomerular apparatus were measured in the histological specimen, stained with haematoxylin and eosin. The measurements were performed with the help of transmitted light medical microvisor mVizo-103. It was found the negative influence of the light-induced desynchronosis on the kidneys morphofunctional state that characterized by vascular bundle area decrease and increase of distance between the sheets Shumlyansky – Bowman capsule and stasis of red blood cells in the glomerular capillaries as well as interstitial tissue edema.

Keywords: light-induced desynchronosis, jet lag, renal morphology and function, microcirculation.

Жизнь на земле представляет собой постоянную череду изменяющихся условий, включая смену дня и ночи, времен года, климата [10]. В этой связи целый ряд процессов в организме характеризуется выраженной цикличностью. Физиологическая синхронизация функций различных систем организма обеспечивает человеку высокий уровень работоспособности, большую продолжительность жизни и крепкое здоровье [9]. Вместе с тем следует отметить, что человечество шагнуло вперед, и искусственная среда почти полностью заменила естественную [12]. Так, круглосуточная работа техники на производстве требует постоянного присутствия специалиста. Изменения режима освещения также могут быть вызваны авиаперелетами, которые приводят к резкой смене часовых поясов [11]. Подобные искусственные изменения продолжительности дня способны привести к развитию светового десинхроноза [8].

Десинхроноз представляет собой процесс рассогласования циркадианных, то есть

врожденных суточных и околосуточных ритмов. Поэтому воздействия, нарушающие естественные регуляторные механизмы, могут индуцировать развитие широкого спектра патологических изменений [6]. Очень важно оценить состояние самых динамичных систем организма, в том числе мочевыделительной, функционирование которой имеет выраженные биологические ритмы. В этой связи, срыв регулирующих механизмов при десинхронозах может рассматриваться как одна из причин, приводящих к развитию патологии почек. Согласно статистике, заболевания почек и мочевыводящих путей появляются независимо от пола и возраста. По данным федеральной службы государственной статистики в Российской Федерации от этих болезней страдает 17 % населения (данные на 2014 год), в том числе с диагнозом, установленным впервые в жизни 6,9 %. К сожалению, эти показатели выросли за 3 года (в период с 2010 по 2014 года) на 8,1 % и 4,7 % соответственно [3].

Учитывая первостепенную роль мочевыделительной системы в поддержании внутреннего гомеостаза организма, ее патология может приводить к ухудшению работы всех систем организма, в частности сердечно-сосудистой. Поражение почек ведет к активации секреции ренина, то есть стимуляции работы ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, которая за счет повышения тонуса сосудов приводит к развитию вторичной симптоматической артериальной гипертензии, провоцируя атеросклеротическое повреждение кровеносных сосудов. Кроме того, усиление реабсорбции натрия обеспечивает задержку жидкости в организме, а альдостерон повышает проницаемость сосудистой стенки, приводя к развитию отеков и нарушая транскапиллярный обмен [2].

Анализ научной литературы, посвященной проблеме морфологических изменений в почках при световом десинхронозе, свидетельствует, что этот вопрос остается наименее изученным. В связи с этим целью настоящей работы является изучение влияния светового десинхроноза на морфофункциональное состояние почек в эксперименте на белых крысах.

Материалы и методы

Экспериментальное исследование было проведено в весенне-осенний период на базе научной лаборатории кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского Министерства здравоохранения Российской Федерации. Все эксперименты выполнены в соответствии с приказом Минздрава СССР от 12 августа 1977 года № 755 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных» (по состоянию на 20 марта 2016 года), Федеральным законом «О защите животных от жестокого обращения» от 1 декабря 1999 года, Женевской конвенцией «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals» (Geneva, 1990) и Хельсинкской декларацией о гуманном отношении к животным, а также с рекомендациями

комитета по этике ФГБОУ ВО Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Исследование проведено на белых беспородных крысах-самцах, массой тела 200±50 г. Животные были разделены на две группы: контрольную, включающую 12 особей, находившихся в условиях естественного освещения, и опытную – 12 особей, которым моделировался световой десинхроноз с помощью изменения режима освещения лаборатории. Животные подвергались воздействию комбинации естественного в дневное время и искусственного освещения в ночное время, обеспечиваемого лампой дневного света, эквивалентной по мощности лампе накаливания в 60 Вт.

На двадцать первые сутки животные выведены из эксперимента путем передозировки препаратов для наркоза (внутримышечная комбинация Телазола (ZoetisInc, США) в дозе 0,1 мл/кг и Ксиланита (Нита-Фарм, Россия) в дозе 0,3 мл/кг). После этого была удалена правая почка, которую фиксировали 10 %-м нейтральным формалином. Фрагменты почечной ткани обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации (80–100°), заливали в парафин. С помощью микротомы готовили срезы толщиной 3–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином.

Оценку морфологического состояния почек проводили по качественным и количественным критериям. Морфометрическое исследование выполнено в 30 полях зрения [1] гистологических срезов почек каждого животного контрольной и опытной групп с использованием медицинского микровизора проходящего света mVizo-103. Определяли размеры почечного тельца, капсулы Шумлянско-Боумана, собирательных трубочек, почечных канальцев и площадь клубочкового аппарата.

Весь цифровой материал подвергнут статистической обработке с использованием пакета прикладных статистических программ «STATISTICA 10» (StatSoft®, США). Значимыми считали изменения при $p < 0,05$. Для каждого исследуемого параметра вычисляли медиану (Me) и межквартильный размах. Достоверность полученных значений оценивали при помощи U-критерия Манна – Уитни.

Результаты

В ходе морфологического исследования гистологических срезов почек 12 лабораторных животных, которые подвергались воздействию комбинации естественного освещения днем и искусственного – ночью, отмечены изменения со стороны интерстициальной ткани и гломерулярного аппарата почки. Визуально изменения гломерулярного аппарата проявляются сегментированием клубочков, приобретение ими «лапчатого» вида. В капиллярах почечного тельца, а также в междольковых сосудах прослеживается стаз эритроцитов (Рис. 1). Также, отмечается явное изменение формы почечного тельца в сторону большей эллипсоидности по

сравнению с практически круглыми тельцами крыс контрольной группы.

При морфометрии установлено, что у животных опытной группы происходит статистически значимое увеличение размера почечного тельца по длинной оси на 24 % (Табл.). Кроме того, увеличивается соотношение между диаметром Мальпигиева тельца по длинной оси и диаметром по короткой оси. В опытной группе диаметр почечного тельца по длинной оси в среднем на 29 % больше, чем по короткой оси, а в контрольной – лишь на 8 % (Табл.), что отражает изменение формы почечного тельца.

Помимо полнокровия наблюдались кровоизлияния в перитубулярной зоне коркового вещества (рис. 1).

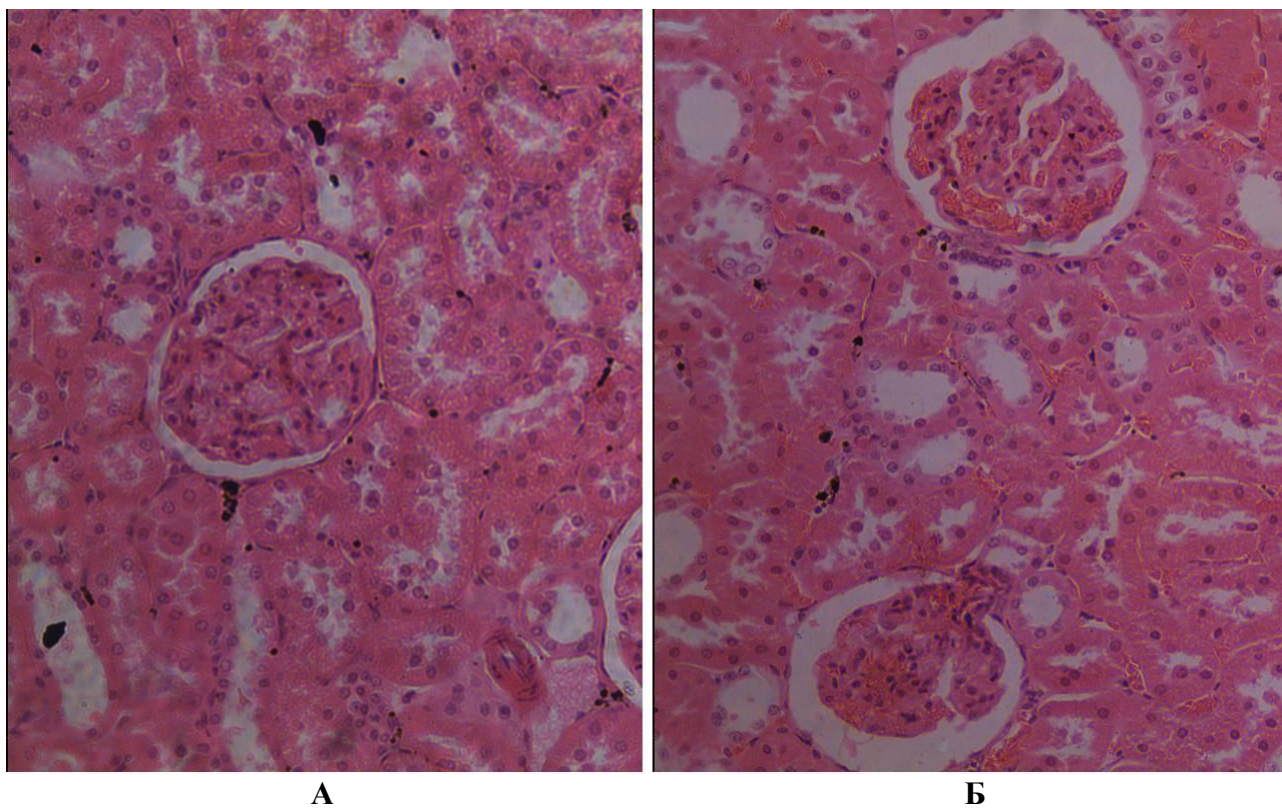


Рис. 1. Корковое вещество почки у животных контрольной (А) и опытной (Б) групп.

Окраска гематоксилином и эозином. Объектив 20х

У животных опытной группы регистрируется статистически значимое уменьшение площади сосудистого пучка в среднем на 22 % до 7 тыс. мкм² по сравнению с контролем (табл.). Периметр сосудистого пучка у животных опытной группы не претерпевает значимого изменения по сравнению с контролем (табл.). Увеличение размеров почечного тельца и уменьшение площади сосудистого пучка у животных опытной группы сопровождается увеличением пространства между париетальным и висцеральным листками капсулы Шумлянскогo – Боумена в 2,2 раза до 20 мкм, против 9 мкм в контрольной группе (табл.).

В корковом веществе почек контрольной группы вместе с изменениями почечного

тельца выявляются структурно функциональные нарушения канальцевой системы нефронов. Так, в отдельных канальцах визуализируется слищивание апикальных полюсов нефротелия и щеточных каемок с элементами кариорексиса и кариолизиса эпителиальных клеток.

В среднем по группе не отмечается значимого изменения диаметра канальцев нефрона по сравнению с животными контрольной группы (табл.).

Результаты морфометрического исследования

Определяемый параметр	Контроль (n=12)	Опытная группа (n=12)	Значимость различий
Диаметр почечного тельца по длинной оси, мкм	128 (120; 137)	159 (149; 166)	p=0,000001
Диаметр почечного тельца по короткой оси, мкм	118 (110; 123)	123 (116; 129)	p=0,107304
Площадь сосудистого пучка, тыс.мкм ²	9 (8; 10)	7 (4; 9)	p=0,000003
Периметр сосудистого пучка, мкм	347 (330;364)	337 (287; 368)	p=0,431976
Пространство между листками капсулы Шумлянскогo – Боумена, мкм	9 (8; 11)	20 (17; 23)	p=0,000001
Диаметр канальца нефрона, мкм	43 (37; 50)	43 (38; 48)	p=0,976781
Диаметр собирательной трубочки, мкм	36 (30; 43)	46 (38; 51)	p=0,021492

Примечания: в каждом случае приведены медиана, верхний и нижний квартили; p – по сравнению с контрольной группой.

В мозговом веществе почек животных группы сравнения отмечается выраженный интерстициальный отек. Структура стенок некоторых собирательных трубочек находилась в состоянии дезорганизации (рис. 2).

При морфометрии у белых крыс, подвергавшихся воздействию комбинации естественного и искусственного освещения, выявлено увеличение диаметра собирательной трубочки в среднем на 28 % до 46 мкм по сравнению с контролем – 36 мкм (табл.).

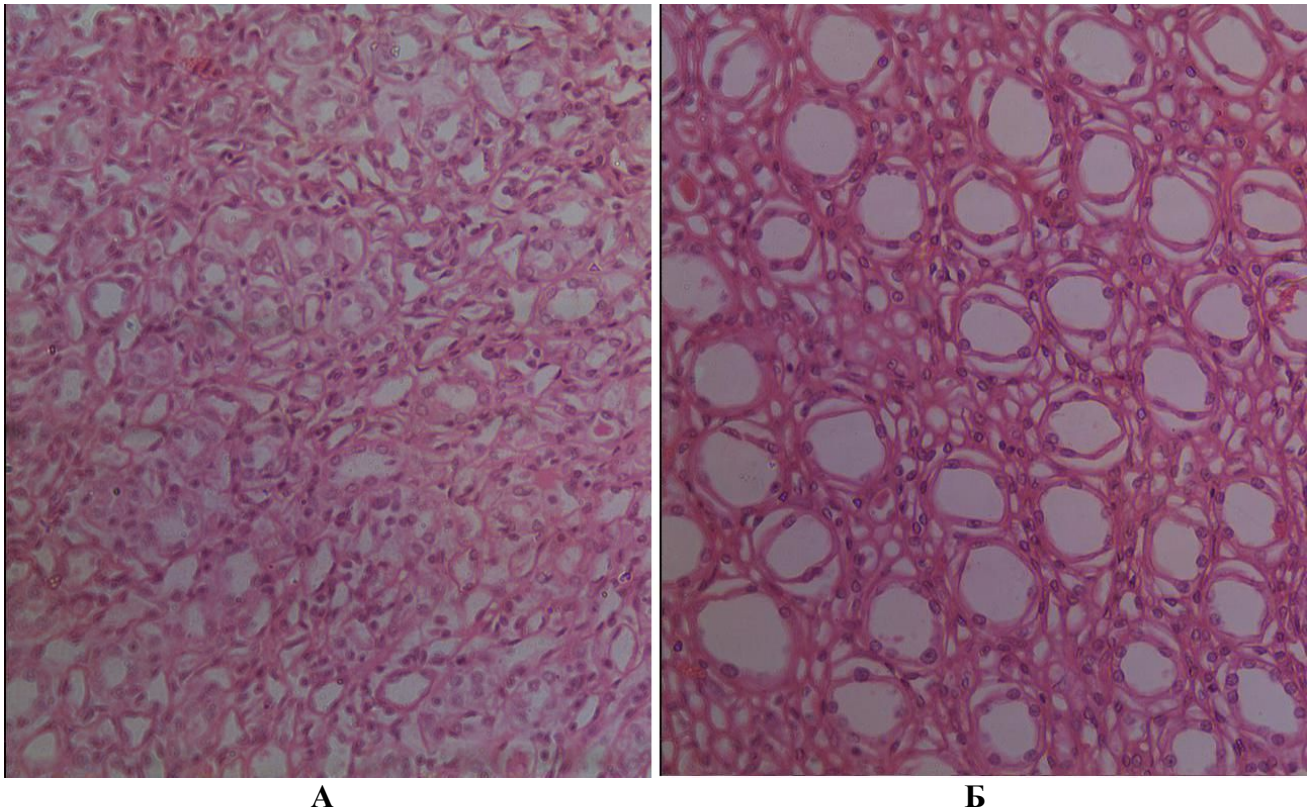


Рис. 2. Мозговое вещество почки у животных контрольной (А) и опытной (Б) групп.

Окраска гематоксилином и эозином. Объектив 20х

Обсуждение

Результаты проведенного эксперимента свидетельствуют о том, что воздействие комбинации естественного освещения днем и искусственного – ночью, индуцирует развитие выраженных структурно-функциональных изменений как в корковом, так и в мозговом веществе почек белых крыс. Вместе с тем центральным вопросом, подтолкнувшим к проведению данного исследования, является до сих пор неясный механизм развития морфологических нарушений при воздействии такого стрессорного фактора, как световой десинхроноз.

В настоящее время доказана взаимосвязь нарушения циркадианных ритмов с развитием стресс-реакции, определяющую роль в которой играет гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система, повышающая уровень стрессорных медиаторов и гормонов в ответ на действие альтерирующих агентов [9, 10, 12]. Одним из подобных нейропептидов является кортикотропин-рилизинг-гормон или кортиколиберин, действующий на кортикотропоциты аденогипофиза, которые начинают расщеплять прогормон проопиомеланокортин, в результате чего образуется аденокортикотропный гормон. Кортиколиберин с током крови достигает клеток пучковой зоны коры надпочечника и стимулирует синтез и секрецию глюкокортикостероидов, действие которых приводит к повышению системного артериального давления и чувствительности миокарда и стенок сосудов к катехоламинам, что

в целом может рассматриваться как риск кардиоваскулярной патологии [5].

Аналогично световая депривация по системе межнейрональных синапсов оказывает действие на заднюю группу ядер гипоталамуса. Возбуждение от этого высшего центра симпатической части вегетативной нервной системы передается по нервным волокнам к клеткам ядер серого вещества боковых рогов спинного мозга всех грудных и трех верхних поясничных сегментов. Постганглионарные волокна подходят к клеткам мозгового вещества надпочечников, где стимулируют секрецию катехоламинов [12]. Выделение гормонов стресса в кровь объясняет угнетение активных механизмов регуляции микрокровотока, уменьшение площади сосудистого пучка, расширение пространства между листками капсулы Шумлянского – Боумана, стаз эритроцитов в капиллярной сети клубочка.

Согласно современным данным литературы, световая депривация также оказывает влияние на работу супрахиазматического ядра переднего гипоталамуса, контролирующего ритмы секреции ионов Na^+ и Ca^{2+} в почках, а также супраоптических и паравентрикулярных ядер, регулирующих экскрецию ионов K^+ и диурез [2]. Нарушение регуляции транспорта ионов объясняет возникновение выраженного интерстициального отека и структурных нарушений в канальцевой системе нефронов у животных. Изменение эпителия почечных канальцев также может свидетельствовать о развитии такого метаболического проявления стресса, как гипоксия. Притом, гипоксическое повреждение канальцев в сочетании с уменьшением площади сосудистого пучка является признаком ишемии [7], что, вероятно, является следствием спазма сосудов.

Выявленные в ходе эксперимента отклонения от нормы отражают значительные изменения внутриорганной гемодинамики почек. Это, в свою очередь, согласуется с результатами других авторов, свидетельствующими о резком нарушении механизмов регуляции микроциркуляции, угнетении общей модуляции кровотока, снижении перфузии и абсолютных амплитуд эндотелиальных, миогенных, кардиальных и дыхательных колебаний при световом десинхронозе [4, 5].

Заключение

Полученные результаты позволяют заключить, что световой десинхроноз в стадию структурных нарушений приводит к развитию серьезных морфологических изменений в почках белых крыс в условиях эксперимента. Представленные данные обосновывают целесообразность рассмотрения светового десинхроноза в качестве фактора развития патологии мочевыделительной системы.

Список литературы

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М., 1989. – С. 233-246.
2. Влияние освещенности на возрастные особенности функций почек у крыс / А.И. Горанский, И.А. Виноградова, Е.Ю. Барсукова и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2005. – Приложение 1. – С. 56.
3. Заболеваемость населения по основным классам, группам и отдельным болезням / М.А. Дианов, С.Ю. Никитина, Л.И. Агеева и др. // Здравоохранение в России. Статистический сборник. – 2015. – С. 30.
4. Герасимов А.В. Морфофункциональные закономерности адаптации: нейроэндокринные центры и поднижнечелюстные железы при воздействии света и радиации (экспериментальное исследование): дис. ... д-ра мед. наук. – Томск, 2006. – 358 с.
5. Изменения микроциркуляции и гемокоагуляции при экспериментальном световом десинхронозе / К.И. Журкин, О.В. Злобина, А.Н. Иванов и др. // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2016. – № 3 (67). – С. 164-166.
6. Модифицирующее влияние постоянного освещения на организм крыс в зависимости от сроков начала воздействия / Т.А. Лотош, И.А. Виноградова, А.В. Букалев и др. // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 5-2. – С. 308-313.
7. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации. – М.: Медицина, 1993. – С. 331.
8. Никитин Ю.П., Хаснулин В.И., Гудков А.Б. Современные проблемы северной медицины и усилия ученых по их решению // Вестник Северного (Арктического) федерального университета. Серия: Медико-биологические науки. – 2014. – № 3. – С. 63-72.
9. Прохорова Э.М. Биологические ритмы и здоровье // Сервис плюс. – 2010. – № 3. – С. 20-26.
10. Рапопорт С.И., Чибисов С.М., Благодоров М.Л. Актуальные проблемы хронобиологии и хрономедицины (по материалам съезда) // Клиническая медицина. – 2013. – № 9. – С. 71-73.
11. Сравнительный анализ вероятных последствий влияния на здоровье граждан различных сценарных условий исчисления времени / В.Б. Алексеев, Д.А. Кирьянов, М.Ю. Цинкер и др. // Анализ риска здоровью. – 2014. – № 1. – С. 88-98.
12. Фролов В.А., Чибисов С.М., Халберг Ф. Биологические ритмы, экология и стресс (по материалам международного конгресса «Здоровье и образование в XXI веке. Концепции болезней цивилизации», РУДН, 2007) // Вестник РУДН. Серия: Медицина. – 2008. – № 4. – С. 46-55.