

© Коллектив авторов, 2019
УДК 611.61.018:612.014.44:599.323.4

О. В. Злобина, А. Н. Иванов, В. М. Антонова, Т. А. Андропова, И. О. Бугаева

МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПОЧЕК ПОД ВЛИЯНИЕМ СВЕТОВОГО ДЕСИНХРОНОЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. — проф. И. О. Бугаева), ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского» Минздрава России

Цель — изучение структурных изменений в почках в зависимости от длительности световой десинхронизации биологических ритмов в эксперименте.

Материал и методы. С использованием модели Light Light исследовали влияние светового десинхроноза на морфофункциональное состояние тканей почки у белых нелинейных крыс-самцов на 1-, 10-е и 21-е сутки эксперимента. Изучали концентрацию катехоламинов в мазках крови, приготовленных по методике, предложенной А. И. Мардарь, Д. П. Кладиенко (1986).

Результаты. Под влиянием светового десинхроноза происходит прогрессирующее уменьшение площади клубочка и расширение просвета капсулы клубочка в корковых нефронах, что обусловлено спазмированием питающих сосудов вследствие увеличения концентрации катехоламинов. На 21-е сутки эксперимента наблюдается расширение как проксимальных, так и дистальных отделов почечных канальцев, отмечается массивная гибель эпителиальных клеток. В мозговом веществе почки прослеживаются интерстициальный отек и увеличение просвета собирательных почечных трубочек.

Выводы. Выявленные структурно-функциональные изменения почки свидетельствуют о негативном влиянии светового десинхроноза и позволяют отнести его к факторам риска развития патологии почки.

Ключевые слова: почка крысы, корковый нефрон, эпителиальные клетки, световой десинхроноз, морфометрия, катехоламины

Неотъемлемой характеристикой жизни современного человека стало неравномерное чередование периодов работы и отдыха, сна и бодрствования с искусственным изменением продолжительности светового дня [5]. Увеличение числа совершаемых трансмеридиональных авиаперелетов, массовая трансграничная подвижность населения приводят к резкой смене часовых поясов [14]. Ускорение темпов производства в сфере товаров и услуг повлекло за собой необходимость интенсификации труда и вынудило большое число людей трудиться не только в дневные, но и в ночные часы. Происходящая при этом временная дискоординация организма приводит к развитию светового десинхроноза [6].

Световая десинхронизация биоритмов нарушает естественные регуляторные механизмы соматических функций. Рассогласование внутри- и межсистемных механизмов регуляции со временем приводит к истощению физиологических резервов, индуцирует возникновение функциональных нарушений и их переход в структурные [2, 4].

Мочевая система участвует в поддержании постоянства внутренней среды организма и функционально тесно связана с сердечно-

сосудистой системой [10]. От болезней почек в 2017 г. в России страдали 17% населения, и данная цифра имеет тенденцию к росту [1]. Поэтому анализ факторов риска в развитии патологии мочевой системы представляется актуальной задачей.

Цель работы — изучение структурных изменений в почках в зависимости от длительности световой десинхронизации биологических ритмов в эксперименте на белых крысах-самцах.

Материал и методы. Экспериментальное исследование проведено на базе ЦНИЛ и научной лаборатории кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского» Минздрава России на 48 белых беспородных крысах-самцах массой 180–220 г при соблюдении положений Хельсинкской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации о гуманном отношении к животным (2000 г.) и с одобрения этического комитета вуза (протокол № 4 от 06.12.2016 г.). В работе использовалась экспериментальная модель Light Light, в соответствии с которой крысы находятся в условиях постоянного освещения интенсивностью 300 лк в светлое и 500 лк — в темное время суток, что приводит к световому десинхронозу [13]. Животные были разделены на 4 группы по 12 особей в каждой. Контрольная группа находилась в естественных условиях освещения. Остальные 3 подопытные группы подвергали постоянному искусственному освещению в течение 1, 10

Сведения об авторах:

Злобина Ольга Вячеславовна (e-mail: zlobinaow@mail.ru), *Иванов Алексей Николаевич*, *Антонова Вера Михайловна*, *Андропова Тамара Алексеевна*, *Бугаева Ирина Олеговна*, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского» Минздрава России, 410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112

и 21 сут. Животных выводили из эксперимента путем передозировки препаратов для наркоза — телазола (Zoetis Inc, США) и ксиланита (Нита-Фарм, Россия).

Для исследования правую почку животного фиксировали в 10% растворе формалина, гистологические препараты готовили по стандартной методике [11]. Серийные парафиновые срезы почек толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином — эозином. В мазках крови, приготовленных с использованием цитохимического метода А. И. Мардарь, Д. П. Кладиенко [8], подсчитывали число гранул катехоламинов, сорбированных на 100 эритроцитах в 10 полях зрения при увеличении 63.

Морфологический и морфометрический анализ препаратов почек и мазков крови проводили с помощью микровизора проходящего света μ Vizo-103 (ООО «ЛОМО ФОТОНИКА» РФ). Изучали диаметр почечного тельца по длинной и короткой оси, площадь клубочковой капиллярной сети, просвет капсулы клубочка в 30 полях зрения.

Обработку данных производили с помощью пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft®, США) для определения медианы (Me) и межквартильного размаха. О различиях независимых выборок судили по величине U-критерия Манна—Уитни и считали их значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования. Установлено, что у крыс 1-й подопытной группы на 1-е сутки в корковых нефронах происходит значимое уменьшение диаметра почечного тельца по короткой оси (на 13,7%) и площади клубочковой капиллярной сети (на 26%), а также увеличивается просвет капсулы клубочка на 55% по сравнению с контрольной группой (табл. 1). В канальцах нефронов изменений не наблюдается.

В юкстамедуллярных нефронах не выявлено статистически значимых изменений (табл. 2).

При микроскопии мазков крови у животных данной группы регистрируется 4-кратное увеличение концентрации катехоламинов по сравнению с контролем (табл. 3).

У животных подопытной группы на 10-е сутки эксперимента визуально отмечается наличие отека интерстициальной ткани, а также единичных очагов клеточной инфильтрации, локализующихся преимущественно в корковом веществе. В корковых нефронах происходит уменьшение диаметра почечного тельца по короткой оси (на 16,2%). Площадь клубочковой капиллярной сети и просвет капсулы клубочка не отличаются от контрольных значений. Наблюдается расширение дистального сегмента почечных канальцев как в корковых, так и в юкстамедуллярных нефронах. В просвете канальцев эпителиальные клетки имеют признаки вакуольной дистрофии, отмечается сдувание апикальной части эпителия преимущественно в корковых нефронах.

В мазках крови сохраняется повышенный уровень катехоламинов, сорбированных на эритроцитах, в сравнении с контролем. Однако по сравнению с 1-ми сутками эксперимента установлено значимое его снижение на 30% (см. табл. 3).

На 21-е сутки эксперимента в интерстициальной ткани нарастает отек, появляются очаговые кровоизлияния в перитубулярной зоне коркового вещества. Это сопровождается значительной сегментацией («лапчатостью») клубочковой капиллярной сети (рисунк, а) и диапедезом эритроцитов в корковых нефронах. Морфометрически регистрируется значимое увеличение диаметра почечного тельца на 24,2% по длинной оси. Наблюдаются уменьшение площади клубочковой капиллярной сети кортикальных нефронов на 22,2% и расширение просвета капсулы клубочка в 2,1 раза по сравнению с группой контроля (см. табл. 1). Увеличивается диаметр как проксимального, так и дистального отделов почечных

Таблица 1

Результаты морфометрического исследования почечных телец корковых нефронов в почках экспериментальных животных

Показатель	Контроль (n=12)	1-е сутки (n=12)	10-е сутки (n=12)	21-е сутки (n=12)
Диаметр почечного тельца по длинной оси, мкм	128 (119; 137)	124 (112; 136) $p_1=0,107420$	122 (109; 133) $p_1=0,020339$ $p_2=0,363963$	159 (149; 166) $p_1=0,000001$ $p_2=0,000001$
Диаметр почечного тельца по короткой оси, мкм	117 (109; 123)	101 (93; 113) $p_1=0,000008$	98 (84; 107) $p_1=0,000001$ $p_2=0,078545$	123 (116; 129) $p_1=0,015482$ $p_2=0,000001$
Площадь клубочковой капиллярной сети, тыс. мкм ²	9,0 (8,0; 10,0)	7,5 (6,3; 8,9) $p_1=0,003789$	8,6 (6,0; 9,0) $p_1=0,098120$ $p_2=0,023003$	7,0 (4,0; 9,0) $p_1=0,000003$ $p_2=0,012812$
Просвет капсулы клубочка, мкм	9 (8; 11)	14 (11; 17) $p_1=0,000001$	10 (8; 12) $p_1=0,134413$ $p_2=0,000081$	19 (16; 22) $p_1=0,000001$ $p_2=0,000011$

Примечание. Здесь и табл. 2, 3: в каждом случае приведены медиана, верхний и нижний квартили; p_1 — уровень значимости различий по сравнению с контрольной группой; p_2 — уровень значимости различий по сравнению с группой сравнения на 1-е сутки эксперимента.

Таблица 2

**Результаты морфометрического исследования почечных телец юкстамедуллярных нефронов
в почках экспериментальных животных**

Показатель	Контроль (n=12)	1-е сутки (n=12)	10-е сутки (n=12)	21-е сутки (n=12)
Диаметр почечного тельца по длинной оси, мкм	136 (119; 143)	139 (129; 169) $p_1=0,183025$	142 (119; 173) $p_1=0,212483$ $p_2=0,990342$	157 (124; 168) $p_1=0,001052$ $p_2=0,101392$
Диаметр почечного тельца по короткой оси, мкм	115 (97; 120)	118 (98; 115) $p_1=0,175193$	113 (96; 114) $p_1=0,250173$ $p_2=0,786903$	126 (112; 136) $p_1=0,002380$ $p_2=0,324869$
Площадь клубочковой капиллярной сети, тыс. мкм ²	8,0 (7,0; 10,0)	7,0 (7,0; 8,3) $p_1=0,200881$	8,0 (6,0; 9,3) $p_1=0,135466$ $p_2=0,191115$	10,0 (6,0; 13,0) $p_1=0,022627$ $p_2=0,003915$
Просвет капсулы клубочка, мкм	10 (6; 12)	11 (8; 13) $p_1=0,311182$	10 (8; 13) $p_1=0,253512$ $p_2=0,871783$	15 (12; 20) $p_1=0,000001$ $p_2=0,000001$

Таблица 3

**Результаты морфометрической оценки
содержания катехоламинов в мазках крови
экспериментальных животных**

Группа животных	Число гранул катехоламинов, сорбированных на эритроцитах	Уровень значимости различий (p)
Контроль	24,2 (18,3; 33,2)	–
1-е сутки	93,0 (47,5; 131,0)	$p_1=0,000901$
10-е сутки	65,0 (49,8; 75,2)	$p_1=0,000404$ $p_2=0,124284$
21-е сутки	132,5 (94,3; 153,0)	$p_1=0,000017$ $p_2=0,067863$ $p_3=0,000037$

канальцев, отмечается массивная гибель эпителиоцитов с образованием конгломератов в просвете канальцев.

Просвет собирательных почечных трубочек расширен, прослеживается интерстициальный отек мозгового вещества почки.

В юкстамедуллярных нефронах на 21-е сутки визуально обнаруживается полнокровие капиллярной сети клубочка, а в некоторых из них — сепарированная кровь в просвете капсулы почечного тельца (см. рисунок, б). Диаметр почечного тельца по длинной и короткой оси увеличивается на 15,4 и 9,6 % соответственно. Также происходит увеличение таких параметров как площадь капиллярной сети (на 25 %) и просвет капсулы клубочка (на 50 %) по сравнению с контролем (см. табл. 2). Число гранул катехоламинов, сорбированных на эритроцитах, в 5,5 раза больше, чем в крови животных контрольной группы (см. табл. 3).

Обсуждение полученных данных. Экспериментальное световое воздействие при-

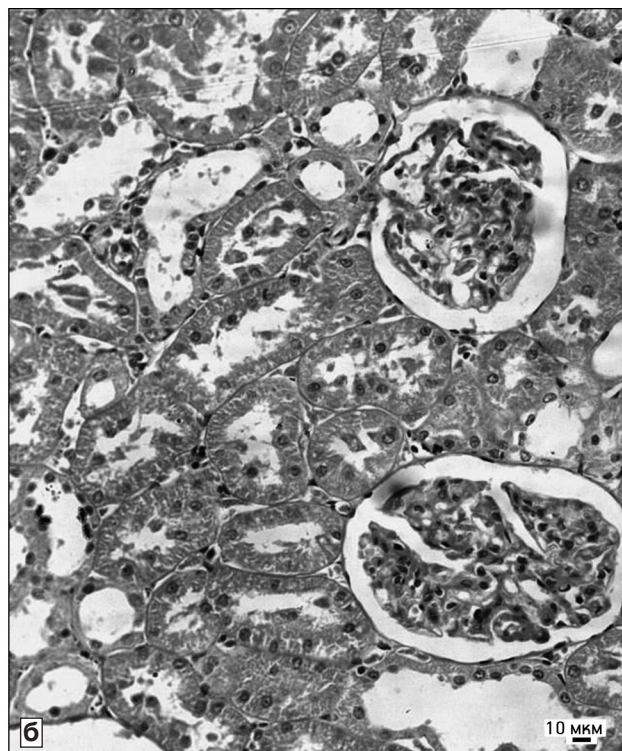
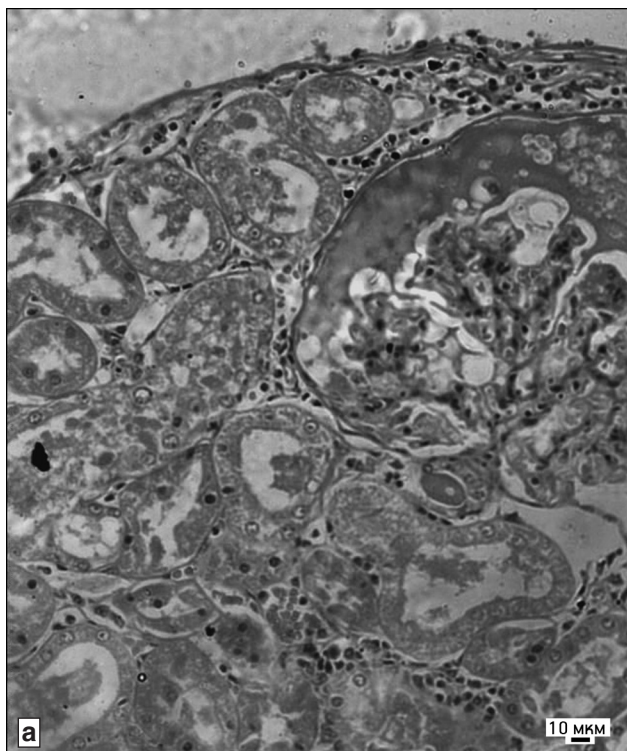
водит к морфологическим изменениям тканей почки, выраженность которых определяется длительностью освещения.

Регистрируемые на 1-е сутки выраженное уменьшение площади клубочковой капиллярной сети в области корковых нефронов, диаметра почечного тельца и увеличение просвета капсулы клубочка обусловлены спазмированием приносящей артериолы под действием катехоламинов [16].

На 10-е сутки эксперимента происходит восстановление таких параметров, как площадь клубочковой капиллярной сети и просвет капсулы клубочка корковых нефронов, что обусловлено значимым снижением концентрации катехоламинов.

На 21-е сутки эксперимента нарастают морфологические признаки ишемии почки — отек интерстициальной ткани и выраженные дистрофические изменения в почечных канальцах [9]. Это приводит к затруднению оттока жидкости из капсулы клубочка корковых нефронов, что проявляется ее расширением и увеличением размера почечного тельца юкстамедуллярных нефронов [12].

Анализируя механизм морфологических нарушений в почках, следует отметить их выраженную этапность, которая соответствует стадиям общего адаптационного синдрома [15]. В целом, значительная активация симпатико-адреналовой системы объясняет обнаруженные эффекты десинхроноза на кровоток [3]. Выявленные признаки ишемии почки характерны для реакции на стресс, поэтому световой десинхроноз можно рассматривать как самостоятельный стрессогенный фактор, способный вызвать не только функциональные, но и структурные нарушения в различных органах-мишенях. Следовательно, световую дис-



Корковое вещество почки у животных подопытной группы на 21-е сутки в юкстамедуллярной (а) и перикортикальной (б) зоне. Окраска гематоксилином — эозином. Об. 20

координацию биоритмов организма следует относить к факторам риска развития патологии почек и мочевой системы в целом.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского» Минздрава России по теме «Разработка математической модели для оценки скорости трансформации функциональных изменений в целостном организме при световом десинхронозе в необратимые морфологические изменения органов-мишеней в эксперименте» (срок выполнения — 2018–2020 гг.).

Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: О. В. З., А. Н. И., И. О. Б.

Сбор и обработка материала: О. В. З., В. М. А.

Статистическая обработка данных: В. М. А.

Анализ и интерпретация данных: О. В. З., А. Н. И.

Написание текста: О. В. З., А. Н. И., В. М. А., Т. А. А.

Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агеева Л. И., Александрова Г. А., Зайченко Н. М., Кириллова Г. Н., Леонов С. А., Огрызко Е. В., Титова И. А., Харьковская Т. Л., Чумарина В. Ж., Шубочкина Е. М. Заболеваемость населения по основным классам, группам и отдельным болезням // *Здравоохранение в России. Статистический сборник*. 2017. С. 29 [Ageeva L. I., Aleksandrova G. A., Zaichenko N. M., Kirillova G. N., Leonov S. A., Ogryzko E. V., Titova I. A., Khar'kova T. L., Chumarina V. Zh., Shubochkina E. M. Morbidity of the population in the main

classes, groups and issues of the diseases // *Zravoohranenie v Rossii. Statisticheskii sbornik*. 2017. P. 29. In Russ.].

2. Антонова В. М., Злобина О. В., Иванов А. Н., Бугаева И. О., Захарова Н. Б., Пучиньян Д. М. Морфофункциональное состояние почек на стадии структурных нарушений светового десинхроноза в эксперименте // *Современные проблемы науки и образования*. 2017. № 1 [Antonova V. M., Zlobina O. V., Ivanov A. N., Bugaeva I. O., Zakharova N. B., Puchin'yan D. M. The kidneys morphofunctional state at the light-induced desynchronization structural damage stage in experiment // *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2017. № 1. In Russ.].
3. Иванов А. Н. Изменение активности стресс-реализующих систем организма под влиянием облучения терагерцовыми волнами на частотах оксида азота у белых крыс при остром стрессе // *Бюлл. exper. биол.* 2012. Т. 154, № 9. С. 286–289 [Ivanov A. N. Changes in the activity of stress-realizing systems of the organism under the influence of irradiation with terahertz waves at frequencies of the nitrogen oxide in albino rats under acute stress // *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny*. 2012. Vol. 154, № 9. P. 286–289. In Russ.].
4. Журкин К. И., Злобина О. В., Иванов А. Н., Бугаева И. О. Изменения микроциркуляции и гемокоагуляции при экспериментальном световом десинхронозе и др. // *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2016. № 3 (67). С. 164–166 [Zhurkin K. I., Zlobina O. V., Ivanov A. N., Bugaeva I. O. Changes in microcirculation and hemocoagulation in experimental light desynchronization // *Tromboz, gemostaz i reologiya*. 2016. № 3 (67). P. 164–166. In Russ.].
5. Застрожин М. С., Агарвал Р. К., Чибисов С. М. Десинхроноз как проявление нормы и патологии // *Здоровье и образование в XXI веке*. 2012. Т. 14, № 2. С. 51–54 [Zastrozhin M. S., Agarval R. K., Chibisov S. M. Desynchronization as a manifestation

- of the normal and pathological // *Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke*. 2012. Vol. 14, № 2. P. 51–54. In Russ.].
6. Катинас Г. С., Чибисов С. М., Агарвал Р. К. Актуальные термины современной хронобиологии // *Здоровье и образование в XXI веке*. 2015. Т. 17, № 1. С. 4–11 [Katinas G. S., Chibisov S. M., Agarval R. K. The actual terms of modern chronobiology // *Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke*. 2015. Vol. 17, № 1. P. 4–11. In Russ.].
 7. Коломеец Н. Ю., Аверьянова Н. И., Зарницына Н. Ю., Косарева П. В. Результаты морфометрических исследований ткани почек экспериментальных животных // *Фундаментальные исследования*. 2010. № 11. С. 9–12 [Kolomeets N. Yu., Aver'yanova N. I., Zarnitsyna N. Yu., Kosareva P. V. The results of morphometric studies of the kidney tissue of experimental animals // *Fundamental'nye issledovaniya*. 2010. № 11. P. 9–12. In Russ.].
 8. Мардарь А. И., Кладиенко Д. П. Цитохимический способ выявления катехоламинов в эритроцитах // *Лабораторное дело*. 1986. № 10. С. 586–588 [Mardar' A. I., Kladienko D. P. *Cytochemical method of catecholamine detection in erythrocytes* // *Laboratornoe delo*. 1986. № 10. P. 586–588. In Russ.].
 9. Маслякова Г. Н., Напшева А. М. Морфология хронической болезни почек, обусловленной мочекаменной болезнью // *Бюллетень медицинских интернет-конференций*. 2013. Т. 3, № 4. С. 852–855 [Maslyakova G. N., Napsheva A. M. Morphology of chronic kidney disease caused by urolithiasis // *Byulleten' meditsinskikh internet-konferentsii*. 2013. Vol. 3, № 4. P. 852–855. In Russ.].
 10. Решетников Е. А., Акулова Л. Ю., Батлуцкая И. В. Молекулярно-генетические механизмы функционирования сердечно-сосудистой системы и роль ренин-ангиотензиновой системы в обеспечении сердечно-сосудистых реакций в организме // *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация*. 2013. № 11 (154). С. 179–184 [Reshetnikov E. A., Akulova L. Yu., Batlutskaya I. V. Molecular-genetic mechanisms of the cardiovascular system functioning and the role of the renin-angiotensin system in providing cardiovascular reactions in the organism // *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Meditsina. Farmatsiya*. 2013. № 11 (154). P. 179–184. In Russ.].
 11. Семченко В. В., Барашкова С. А., Ноздрин В. Н., Артемьев В. Н. Гистологическая техника. Омск-Орел: Омская областная типография, 2006. С. 290 [Semchenko V. V., Barashkova S. A., Nozdryn V. N., Artem'ev V. N. *Histological technique*. Omsk-Orel: Omskaya oblastnaya tipografiya, 2006. P. 290. In Russ.].
 12. Сигитова О. Н., Щербаклова А. Н. Ишемическая болезнь почек // *Земский врач*. 2010. № 4. С. 17–22 [Sigitova O. N., Shcherbakova A. N. Ischemic renal disease // *Zemskii vrach*. 2010. № 4. P. 17–22. In Russ.].
 13. Anisimov V. N., Vinogradova I. A., Panchenko A. V., Popovich I. G., Zabezhinski M. A. Light-at-night-induced circadian disruption, cancer and aging // *Curr. Aging. Sci*. 2012. Vol. 5, № 3. P. 170–177.
 14. Cho Y., Ryu S. H., Lee B. R., Kim K. H., Lee E., Choi J. Effects of artificial light at night on human health: A literature review of observational and experimental studies applied to exposure assessment // *Chronobiol. Int*. 2015. Vol. 32, № 9. P. 1294–1310.
 15. Cunanan A. J., DeWeese B. H., Wagle J. P., Carroll K. M., Sausaman R., Hornsby W. G. 3rd, Haff G. G., Triplett N. T., Pierce K. C., Stone M. H. The General Adaptation Syndrome: A Foundation for the Concept of Periodization // *Sports. Med*. 2018. Vol. 48, № 4. P. 787–797.
 16. Nair V., Komorowsky C. V., Weil E. J., Yee B., Hodgin J., Harder J. L., Godfrey B., Ju W., Boustany-Kari C. M., Schwarz M., Lemley K. V., Nelson P. J., Nelson R. G., Kretzler M. A molecular morphometric approach to diabetic kidney disease can link structure to function and outcome // *Kidney Int*. 2018. Vol. 93, № 2. P. 439–449.
- Поступила в редакцию 10.04.2018
Получена после доработки 21.06.2019
- MORPHOMETRIC ASSESSMENT OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES IN THE KIDNEY UNDER THE INFLUENCE OF LIGHT-INDUCED DESYNCHRONOSIS IN EXPERIMENT**
- O. V. Zlobina, A. N. Ivanov, V. M. Antonova, T. A. Andronova, I. O. Bugaeva*
- Objective** — to study the structural changes in the kidney, depending on the duration of light desynchronization of biological rhythms in the experiment.
- Material and methods.** Using the Light Light model, the effect of light desynchronization on the morpho-functional state of the kidney tissues was studied in albino outbred male rats on the 1st, 10th and 21st day of the experiment. The concentration of catecholamines was studied in blood smears prepared according to the method proposed by A. I. Mardar and D. P. Kladienko.
- Results.** Under the influence of light desynchronization, there was a progressive reduction of the area of the glomerulus and expansion of the lumen of the glomerular capsule in cortical nephrons, which were caused by spasm of the feeding vessels due to an increase in the concentration of catecholamines. On the 21st day of the experiment, there was a dilation of both proximal and distal segments of renal tubules, and massive death of epithelial cells was observed. In the renal medulla, interstitial edema and dilation of the lumen of the collecting renal tubules were found.
- Conclusions.** The revealed structural and functional changes in kidney indicate a negative effect of light desynchronization and allow to attribute it to risk factors for the development of kidney pathology.
- Key words:** *rat kidney, cortical nephron, epithelial cells, light desynchronization, morphometry, catecholamines*
- Department of Histology, Cytology and Embryology, V. I. Razumovskiy Saratov State Medical University, 112 Bolshaya Kazach'ya St., Saratov 410012