

УДК: 616.018.61

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕЧЕНИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ
ПРИ СВЕТОВОМ ДЕСИНХРОНОЗЕ**

О.В. ЗЛОБИНА, С.С. ПАХОМИЙ, И.О. БУГАЕВА, Г.Н. МАСЛЯКОВА, А.Н. ИВАНОВ

*ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского»
Минздрава РФ, ул. Б.Казачья, 112, Саратов, 410012, Россия,
e-mail: spakhomy03@gmail.com; zlobinaow@mail.ru*

Аннотация. Цель исследования: оценить морфологические изменения в печени лабораторных животных, развивающиеся на фоне светового десинхроноза, в эксперименте. Материалы и методы. Исследование выполнено на 48 белых беспородных крысах-самцах с использованием модели *LightLight* в течение 1, 10, и 21 суток. Световой десинхроноз моделировали с помощью изменения режима освещения в помещении лаборатории. Лабораторные животные подвергались воздействию комбинации естественного и, в ночное время, искусственного освещения, обеспечиваемого лампой дневного света, эквивалентной лампе накаливания мощностью 60 Вт. Морфологические изменения в печени оценивали с использованием следующих показателей: количество гепатоцитов с дистрофическими изменениями, количество гепатоцитов в состоянии некроза, количество двуядерных гепатоцитов, коэффициент нормализации паренхимы, количество непаренхиматозных элементов. Морфометрическое исследование проводили с помощью системы анализа цифровых изображений Микровизора медицинского $\mu Vizo-103$. Результаты. В ходе исследования установлено, что световой десинхроноз приводит к развитию в печени повреждения гепатоцитов, нарушению кровообращения, активации процессов пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток и макрофагов. Степень выраженности морфологических изменений в печени определяется продолжительностью светового десинхроноза. На 21-е сутки эксперимента в печени отмечалось достоверное снижение всех исследуемых морфологических показателей, что свидетельствует о переходе стресса в стадию истощения.

Ключевые слова: световой десинхроноз, морфология, печень.

**THE MORPHOLOGICAL CHANGES OF LIVER IN LABORATORY ANIMALS
AT THE LIGHT-INDUCED DESYNCHRONOSIS**

O.V. ZLOBINA, S.S. PAKHOMY, I.O. BUGAEVA, G.N. MASLYAKOVA, A.N. IVANOV

*Saratov State Razumovsky Medical University,
Bolshaya Kazachia St., 112, Saratov, 410012, Russia, e-mail: spakhomy03@gmail.com; zlobinaow@mail.ru*

Abstract. The research purpose was to evaluate the morphological changes in the liver of laboratory animals developing against the background of light desynchronization in an experiment. Materials and methods. The study was performed on 48 white mongrel male rats using the *LightLight* model for 1, 10, and 21 days. Light desynchronism was modeled by changing the lighting regime in a laboratory room. Laboratory animals were exposed to a combination of natural and, at night, artificial lighting provided by a fluorescent lamp equivalent to a 60 W incandescent lamp. Morphological changes in the liver were assessed using the following indicators: the number of hepatocytes with dystrophic changes, the number of hepatocytes in the state of necrosis, the number of binuclear hepatocytes, the parenchymal normalization coefficient, and the number of nonparenchymal elements. Morphometric examination was carried out with the help of the digital image analysis system of the *Microwave Microscope $\mu Vizo-103$* . Results. In the course of the study, it was found that light desynchronization leads to liver damage in hepatocytes, impaired blood circulation, activation of proliferation and differentiation of immunocompetent cells and macrophages. The degree of severity of morphological changes in the liver is determined by the duration of the light desynchronization. On the 21st day of the experiment, a significant decrease in all morphological parameters was observed in the liver, which indicates the transition of stress to the stage of exhaustion.

Key words: light-induced desynchronization, morphology, liver.

Актуальность. Жизнь и существование человека на планете Земля регулируется чередой изменяющихся условий, включая смену дня и ночи, времен года, климата [1]. В этой связи для многих процессов, протекающих в организме, характерна выраженная цикличность [6]. Физиологическая синхронизация функций различных органов и систем играет огромную роль в поддержании гомеостаза и регулированию процессов обмена веществ.

На сегодняшний день в области науки и техники человечество шагнуло далеко вперед: искусственная среда практически полностью заменила естественную, при этом световой режим является одним из важнейших синхронизаторов, который модулирует биоритмы организма. Искусственное освещение приводит к удлинению светового периода дня, что способствует развитию светового десинхроноза.

Десинхроноз – это рассогласование биоритмов организма, в том числе естественного цикла сон-бодрствование, с суточным изменением светового режима, вызывающие нарушение гомеостаза [4]. Внешние воздействия, приводящие к нарушению естественных регуляторных механизмов, могут индуцировать развитие широкого спектра патологических изменений в организме [5]. К группе риска, подверженной влиянию светового десинхроноза, относятся люди, работа которых связана с длительными или частыми авиаперелетами, дежурствами в ночное время суток, а так же работники северных областей и приполярных станций.

Печень имеет особое значение в обеспечении функционирования организма, в поддержании гомеостаза, поэтому патологические изменения, развивающиеся в ней, могут стать причиной нарушения работы всех систем организма. До настоящего времени анализ морфологических изменений в печени лабораторных животных, возникающих в ответ на увеличение длительности светового периода дня, не проводился. Перечисленные и нерешенные задачи, связанные с оценкой воздействия светового десинхроноза на печень лабораторных животных, определили актуальность и целесообразность выполнения настоящего исследования.

Цель исследования – оценить морфологические изменения в печени лабораторных животных, развивающиеся на фоне светового десинхроноза, в эксперименте.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проводили на 48 беспородных половозрелых крысах-самцах массой 180-220 г. Исследование выполняли в соответствии с международными этическими нормами Европейской конвенции защиты позвоночных животных для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986) и «*International Guiding principles for Biomedical Research Involving Animals*» (2012).

Световой десинхроноз моделировали с помощью изменения режима освещения в помещении лаборатории. Лабораторные животные подвергались воздействию комбинации естественного и, в ночное время, искусственного освещения, обеспечиваемого лампой дневного света, эквивалентной лампе накаливания мощностью 60 Вт. Лабораторные животные были распределены на четыре группы – три опытные и одна контрольная, в каждой по 12 особей. Крысы опытных групп подвергались световому десинхронозу по следующей схеме: 1-я опытная группа – в течение одних суток, 2-я опытная группа – в течение 10-и суток, 3-я опытная группа – в течение 21-х суток. Животные контрольной группы находились при стандартном режиме освещения день-ночь. Животные всех экспериментальных групп получали стандартный рацион питания со свободным доступом к пище и воде. После завершения исследования лабораторные животные выводились из эксперимента путем передозировки препаратов: внутримышечная комбинация Телазола в дозе 0,2 мл/кг и Ксиланита в дозе 0,2 мг/кг.

Для морфологического исследования образцы печени фиксировали в 10%-м растворе формалина, подвергали стандартной спиртовой проводке и окрашивали гематоксилином и эозином. Морфометрический анализ гистологических препаратов проводили в 10 полях зрения с использованием системы анализа цифровых изображений микровизора медицинского *μVizo-101* ЛОМО.

Для обработки полученных в ходе исследований данных использовали пакет прикладных статистических программ *Statistica 10.0* (*Stat Soft Inc*, США). Для проверки нормальности распределения значений в выборке использовали тест Колмогорова-Смирнова. В случае отличия распределения от нормального рассчитывали медиану и квартили. Показатель достоверности различий (*P*) вычисляли с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенного морфологического исследования установлено, что у животных 1-й опытной группы в печени регистрировались преимущественно признаки нарушения кровообращения: отмечалось выраженное кровенаполнение органа, в крупных кровеносных сосудах развивалась сепарация крови с развитием умеренно выраженного внутрисосудистого гемолиза эритроцитов (рис. 1А.). Общий план строения печени был сохранен, в цитоплазме гепатоцитов развивалась незначительной степени выраженности дистрофия.

Увеличение длительности светового десинхроноза до 10-и суток сопровождалось развитием признаков повреждения паренхимы и нарушения кровообращения. В гепатоцитах отмечалась умеренно выраженная дистрофия, в строме – умеренно выраженное полнокровие, внутрисосудистый гемолиз эритроцитов и накопление выраженного количества зерен пигмента гемосидерина (рис. 1Б.)

На 21-е сутки эксперимента наблюдалось дальнейшее повреждение паренхимы с развитием выраженной дистрофии гепатоцитов, вплоть до участков фокального некроза. В строме сохранялись умеренно выраженный отек и полнокровие, в просвете крупных сосудов располагались тени эритроцитов, сетчатые массы фибрина. В клетках Купфера обнаруживались в незначительном количестве зерна пигмента гемосидерина (рис. 1В.).

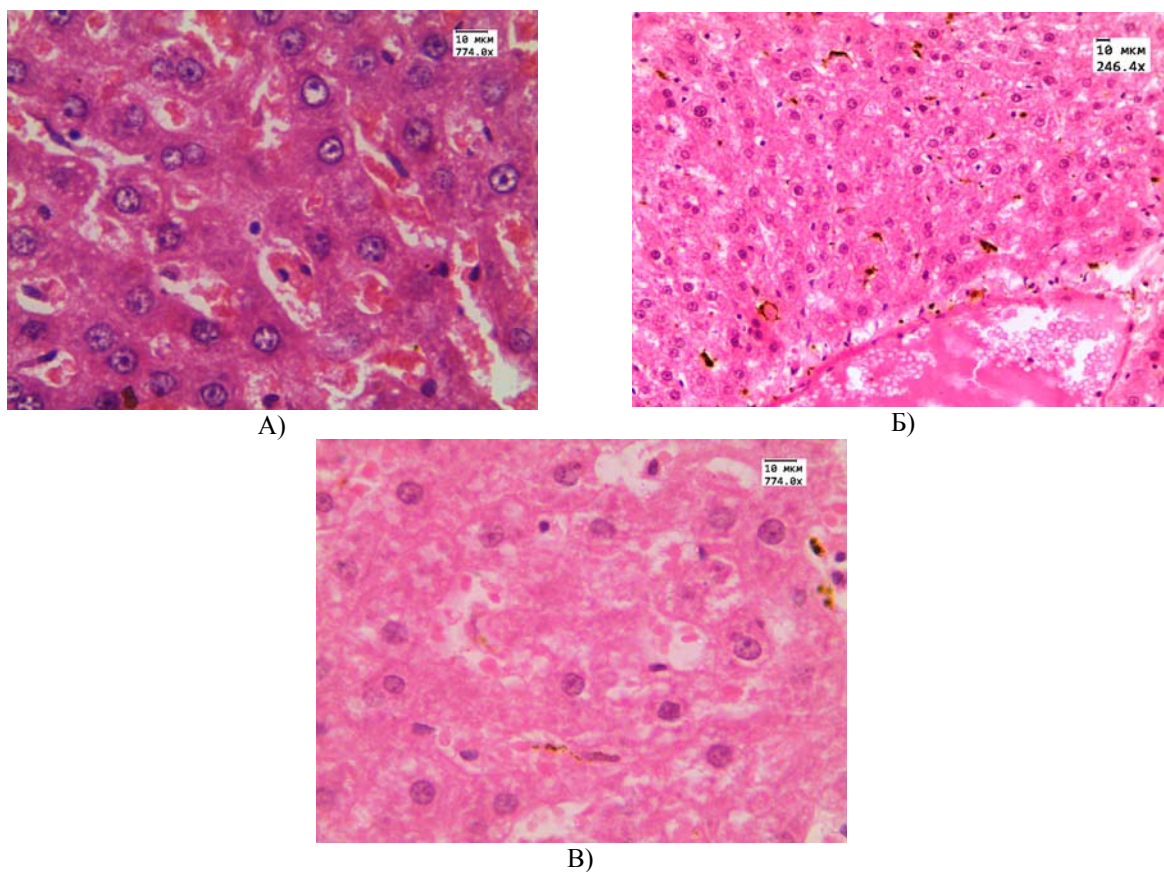


Рис. 1. Морфологическая картина печени на фоне светового десинхроноза.
 А – на 1-й день эксперимента. Окр. Г.-Э. Ув. 774, Б – на 10-й день эксперимента. Окр. Г.-Э. Ув. 226,4,
 В – на 21-й день эксперимента. Окр. Г.-Э. Ув. 774

Морфометрический анализ препаратов печени проводили в 10 полях зрения ($\times 774$) с использованием следующих показателей: количество гепатоцитов с дистрофическими изменениями, количество гепатоцитов в состоянии некроза, количество двуядерных гепатоцитов, коэффициент нормализации паренхимы (КНП), количество непаренхиматозных элементов (НПЭ) в состав которых входили лимфоциты, клетки Купфера и клетки Ито.

Таблица 1

Результаты морфометрического исследования печени

Группы наблюдения	Морфометрические показатели в поле зрения ($\times 774$)				
	Кол-во гепатоцитов с дистрофическими изменениями	Кол-во гепатоцитов в состоянии некроза	КНП	Кол-во НПЭ печени	Кол-во двуядерных гепатоцитов
Контрольная группа	35,9[30;43]	15,9[13;19]	2,3	6,6 [5;8]	4,82[3;6]
1 день десинхроноза	37,6[33;41]	15,1[13;17]	2,4	10,2[7;13]*	6,7[4;9]*
10 день десинхроноза	39,8[35,5;43]	18,08[15;21]*	2,2	6,6[5;8]	5,8[4;8]*
21 день десинхроноза	33,5[29;39]	18,9[16;22]*	1,77*	5,37[4;6]*	3,9[2;5]*

Примечание: * – $p < 0,05$ достоверность отличия с контрольной группой

По данным морфометрического исследования в опытных группах на 10-й и 21-й день эксперимента отмечалось увеличение гепатоцитов в состоянии некроза до 18,08 [15;21] и 18,9 [16;22] соответственно, что на 20% больше по сравнению с показателями в контрольной группе - 15,9 [13;19].

Степень выраженности некробиотических изменений в печени оценивали с помощью подсчета КНП. Проведенные ранее нами исследования показали значимость данного показателя для оценки степени повреждения паренхимы печени [7]. КНП позволяет оценить интенсивность развития некробиотических изменений на основе отношения количества гепатоцитов с дистрофическими изменениями к гепатоцитам в состоянии некроза. При подсчете КНП регистрировалось снижение данного показателя только в группе на 21-й день светового десинхроноза до 1,77, что на 25% меньше по сравнению с результатами, полученными в контрольной группе.

Влияние светового десинхроноза на макрофагальную и лимфоцитарную систему печени, оценивали с помощью количественного подсчета общего числа *непаренхиматозных элементов* (НПЭ) – лимфоцитов, клеток Купфера, клеток Ито в поле зрения ($\times 774$). В первой опытной группе отмечалось увеличение НПЭ печени до 10,2 [7, 13], что на 35% превысило показатели в контрольной группе и свидетельствует о наличии активирующего влияния светового десинхроноза на моноцитарно-макрофагальную систему. Увеличение длительности светового десинхроноза приводило к обратной реакции со стороны макрофагальной системы печени: отмечалось уменьшение числа НПЭ печени до 6,6 [5, 8] на 10-й день эксперимента и дальнейшее снижение до 5,37 [4, 6] – на 21-й день воздействия.

Активность пролиферативных процессов в печени оценивали с помощью подсчета количества двуядерных гепатоцитов в поле зрения ($\times 774$). В опытной группе на 1-й день эксперимента наблюдалось увеличение количества двуядерных гепатоцитов по сравнению с группой контроля на 28% до 6,7 [4, 9]. Увеличение длительности светового десинхроноза приводило к снижению количества двуядерных гепатоцитов до 5,8 [4, 8] на 10-е день эксперимента и до 3,9 [2, 5] – на 21-й день.

Полученные в ходе исследования результаты свидетельствуют о том, что воздействие комбинации естественного освещения днем и искусственного – ночью, приводит к развитию в печени повреждения паренхимы, нарушению кровообращения и активации процессов пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток и макрофагов. Характер выявленных морфологических изменений в печени у животных на фоне светового десинхроноза согласуются с полученными нами ранее результатами микроциркуляторных нарушений [2] и морфологических изменений во внутренних органах [6], а так же данными исследований других авторов. Следует отметить, что возникающие морфологические изменения в печени в ответ на световую стимуляцию характеризуются этапностью развития в соответствии со стадиями десинхроноза.

Формирование светового десинхроноза непосредственно связано с длительностью световой стимуляции, которая активирует светочувствительные супрахиазматические ядра гипоталамуса, что в свою очередь приводит к повышению синтеза тропных гормонов гипофиза и снижению темновой секреции мелатонина эпифизом [3]. Данный механизм запускает симпатoadреналовую систему с дальнейшим выбросом гормонов в кровь. 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 [1, 8]. Регистрируемые на 1-е сутки эксперимента признаки нарушения кровообращения в печени, возможно, связаны с действием катехоламинов, а развивающаяся при этом вазоконстрикция носит адаптивное значение в стадию тревоги. Увеличение числа НПЭ печени свидетельствует об активации процессов пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток и макрофагов в ответ на действие альтерирующего фактора. На 10-е сутки эксперимента отмечаются умеренной степени выраженности дистрофия гепатоцитов и нарушение кровообращения, а так же снижение до контрольных значений количества НПЭ печени, что вероятно связано с активацией стресс-лимитирующих систем в стадию устойчивости стресса. На 21-е сутки отмечается выраженная дистрофия гепатоцитов, вплоть до участков фокального некроза, снижение КНП, уменьшение количества НПЭ и числа двуядерных гепатоцитов, что свидетельствует о переходе стресса в стадию истощения.

Выводы. В печени под влиянием светового десинхроноза развиваются морфологические изменения, степень выраженности которых зависит от длительности эксперимента. Световой десинхроноз приводит к развитию в печени венозного полнокровия и отека разной степени выраженности; сепарации крови и внутрисосудистому гемолизу эритроцитов, дистрофических и некротических процессов в гепатоцитах. Увеличение числа НПЭ печени и количества двуядерных гепатоцитов на первые сутки десинхроноза, вероятно, носит адаптивное значение в стадию тревоги. Снижение данных показателей на 21-е сутки эксперимента является признаками перехода стресса в стадию истощения.

Литература

1. Рапопорт С.И., Чибисов С.М., Благодравов М.Л. Актуальные проблемы хронобиологии и хрономедицины (по материалам съезда) // Клиническая медицина. 2013. № 9. С. 71–73.
2. Изменения микроциркуляции при экспериментальном световом десинхронозе / Иванов А.Н. [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2017. Т. 16, № 1 (61). С. 43–48.
3. Крупаткин А.И. Колебания кровотока – новый диагностический язык в исследовании микроциркуляции // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2014. Т. 13, №1. С. 83–99.
4. Микро-и ультраструктурные особенности печени и активность ядерных эндонуклеаз в гепатоцитах при сочетанных воздействиях магнитного поля промышленной частоты и круглосуточного освещения / Мичурина С.В. [и др.] // Оригинальные исследования. 2010. Т. 138, №5. С. 47–51.
5. Модифицирующее влияние постоянного освещения на организм крыс в зависимости от сроков начала воздействия / Лотош Т.А. [и др.] // Фундаментальные исследования. 2013. № 5-2. С. 308–313.
6. Морфофункциональное состояние почек в стадию структурных нарушений светового десинхроноза в эксперименте / Антонова В.М. [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2017. №1. С. 62.
7. Морфологические изменения в органах лабораторных животных при длительном пероральном введении золотых наночастиц / Маслякова Г.Н. [и др.] // Саратовский научно-медицинский журнал. 2013. Т. 9, № 2. С. 208–213.
8. Прохорова Э.М. Биологические ритмы и здоровье // Сервис плюс. 2010. № 3. С. 20–26.

References

1. Rapoport SI, Chibisov SM, Blagoravov ML. Aktual'nye problemy hronobiologii i hronomeditsiny (po materialam s'ezda) [Actual problems of chronobiology and chronomedicine (on materials of Congress)]. Klinicheskaya medicina. 2013;9:71-3. Russian.
2. Ivanov AN, et al. Izmeneniya mikrocirkulyacii pri ehksperimental'nom svetovom desinhronoze [Changes in microcirculation in experimental light-induced desynchronosis]. Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrocirkulyaciya. 2017;16(61):43-8. Russian.
3. Krupatkin AI. Kolebaniya krovotoka – novyj diagnosticheskij yazyk v issledovanii mikro-cirkulyacii [blood flow fluctuations – a new diagnostic language in the study of micro-circulation]. Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrocirkulyaciya. 2014;13(1):83-99. Russian.
4. Michurina SV, et al. Mikro-i ul'trastrukturnye osobennosti pecheni i aktivnost' yadernyh ehndonukleaz v gepatocitah pri sochetannyh vozdeystviyah magnitnogo polya promyshlennoj chastoty i kruglosutochnogo osveshcheniya [Micro-and ultrastructural features of the liver and the activity of nuclear endonucleases in hepatocytes under the combined effects of the magnetic field of industrial frequency and round-the-clock lighting]. Original'nye issledovaniya. 2010;138(5):47-51. Russian.
5. Lotosh TA, et al. Modificiruyushchee vliyanie postoyannogo osveshcheniya na organizm krysa v zavisimosti ot srokov nachala vozdeystviya [Modifying the effect of constant lighting on the body of the rat, depending on the timing of exposure]. Fundamental'nye issledovaniya. 2013;5-2:308-13. Russian.
6. Antonova VM, et al. Morfofunkcional'noe sostoyanie pochek v stadiyu strukturnyh narushenij svetovogo desinhronoza v ehksperimente [Morphofunctional state of kidneys in the stage of structural disorders of light desynchronosis in experiment]. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2017;1:62. Russian.
7. Maslyakova GN, et al. Morfologicheskie izmeneniya v organah laboratornykh zhivotnykh pri dlitel'nom pero-ral'nom vvedenii zolotykh nanochastich [Morphological changes in the organs of laboratory animals during long-term administration of gold nanoparticles]. Saratovskij nauchno-meditsinskij zhurnal. 2013;9(2):208-13. Russian.
8. Prohorova EHM. Biologicheskie ritmy i zdorov'e [Biological rhythms and health]. Servis plus. 2010;3:20-6. Russian.

Библиографическая ссылка:

Злобина О.В., Пахомий С.С., Бугаева И.О., Маслякова Г.Н., Иванов А.Н. Морфологические изменения в печени лабораторных животных при световом десинхронозе // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2018. №5. Публикация 3-14. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-5/3-14.pdf> (дата обращения: 26.10.2018). *

* номера страниц смотреть после выхода полной версии журнала: URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-5/e2018-5.pdf>