

УДК [612.465.1:616-092.9]:[546.284:628.1.033]

В. С. Гордова, А. И. Прохорова, В. Е. Сергеева

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЧЕЧНЫХ ТЕЛЕЦ
ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ
С ВОДОРАСТВОРИМЫМ СОЕДИНЕНИЕМ КРЕМНИЯ**

50

Избыток соединений кремния в организме приводит к системным нарушениям. Независимо от способа поступления в организм соединения кремния (диоксид кремния, асбест, силикон и наночастицы кремния) оказывают выраженное действие на организм в целом. и Доказана роль этих соединений в патогенезе заболеваний почек. Приведена морфологическая характеристика почечных телец лабораторных мышей (n = 10) при поступлении в течение трех месяцев соединения кремния в концентрации 10 мг/л с питьевой водой ad libitum. Соединения кремния приводят к морфологическим изменениям почечных телец – уменьшению размеров клубочков и увеличению площади полости капсулы. При этом площадь самих клубочков не увеличивается.

An excess of silicon compounds in the body leads to systemic deficiencies. Regardless of the way by which silicon compounds (silicon dioxide, asbestos, silicon, and silicon nanoparticles) enter the body, they always have a marked effect. It is established that these compounds play a part in the pathogenesis of renal diseases. The article provides a morphological description of the renal corpuscles of laboratory mice (n=10) during three months' ad libitum administration of silicon in a concentration of 10 mg/l. Silicon compounds cause morphological changes in renal corpuscles – a reduction in the size of glomeruli and an increase in capsular space.

Ключевые слова: почка, почечные тельца, клубочек, силикаты, питьевая вода.

Key words: kidney, renal corpuscles, glomerulus, silicates, drinking water.

Введение

Считалось, что соединения кремния, входящие в состав антацидов и энтеросорбентов, практически не всасываются в желудочно-кишечном тракте, однако при контакте с водой и биологическими жидкостями диоксида кремния, считающегося нерастворимым, возможно образование некоторого количества биодоступной ортокремниевой кислоты [17; 31].

Питьевая вода – наиболее доступный источник кремния, потому что соли ортокремниевой кислоты хорошо растворимы и легко прони-

кают сквозь слизистую в проксимальном отделе тонкого кишечника, при этом содержание кремния в плазме крови и выделение его почками прямо пропорциональны количеству кремния в пищевом рационе и питьевой воде [17; 19; 31].

Использование продуктов, богатых кремнием, а также специальных биодобавок в качестве источников этого микроэлемента позволило говорить о положительных эффектах влияния кремния на организм [9; 22; 35].

Одновременно избыток в питьевой воде соединений кремния приводит к развитию уролитиаза у человека и млекопитающих [4; 8; 18; 25; 27]. Обнаружена связь между образованием силикатных камней в почках с употреблением антацидов, пищевых добавок [10; 16; 20]. Однако наличие силикатных камней в почках может и не быть связано с принятием внутрь солей кремния [33].

Кремний, поступающий с питьевой водой, рассматривают как одну из причин возникновения хронической почечной недостаточности неясной этиологии, связывая это как с повышенным содержанием в воде солей кремния, так и с аккумулялирующим эффектом [23]. Отмечается, что вероятность возникновения хронического заболевания почек увеличивается при хроническом воздействии соединений кремния [11; 12; 24; 29; 30]. Что касается острой почечной недостаточности вследствие поступления в организм солей кремния, то и такие случаи были зафиксированы [28].

Проведенный нами анализ имеющихся литературных данных показал, что соединения кремния (диоксид кремния, асбест, силикон и наночастицы кремния), независимо от того, как они поступают в организм лабораторных животных и человека (внутривенное введение, вдыхание, пероральное введение), обязательно достигают почек и оказывают, при определенных условиях, патологическое действие [3; 14; 15; 21; 34; 36]. Вопрос о том, прямым или опосредованным является действие кремния на почки, со временем становится только острее — в связи с тем, что роль кремния в развитии аутоиммунных заболеваний уже не вызывает сомнений [6; 13; 14; 32].

Нами не обнаружено работ, которые фиксировали бы морфологическое состояние почек при поступлении с питьевой водой кремния в течение длительного времени. Вопрос, насколько корректно экстраполировать данные, касающиеся водорастворимого кремния (учитывая, что твердые его частицы оказывают сходное действие на людей и на животных), также остается открытым.

Цель исследования. Изучение морфологии почечных телец лабораторных мышей в эксперименте с поступлением в организм водорастворимого соединения кремния в течение трех месяцев.

Материалы, методы. Исследование проводилось на 10 белых нелинейных мышах-самцах, которые содержались в обычных условиях вивария при естественном освещении. В течение трех месяцев контрольная группа (5 мышей) получала *ad libitum* питьевую воду, соответствующую требованиям ГОСТа Р 52109-2003, СанПиНа 2.1.4.1116-02



[1; 2]. Подопытная группа (5 мышей) получала *ad libitum* ту же воду с добавлением девятиводного метасиликата натрия в концентрации 10 мг/л в пересчете на кремний. Выбор метасиликата натрия девятиводного для изменения концентрации кремния в питьевой воде обусловлен его растворимостью; методика такого поступления в организм кремния была отработана в Чувашском государственном университете учениками доктора медицинских наук, профессора В. Л. Сусликова [6].

Через три месяца мышей вывели из эксперимента, извлекали почки, фиксировали их в 10%-ном нейтральном формалине с последующей заливкой в парафин по стандартной методике с последующей окраской гематоксилин-эозином для общегистологической характеристики и проведения морфометрического анализа. С помощью демоверсии программы *Sigma Scan Pro5* по фотографиям со светового микроскопа «Микмед-5» в каждом срезе органа ($\times 400$) была проведена морфометрия почечных телец: измерена площадь всех почечных телец и клубочков в них. На основе полученных данных вычислялась площадь мочевого пространства и ширина полости капсулы.

Статистический анализ полученных цифровых данных проводился с помощью программы *Microsoft Office Excel*. Рассчитывалось среднее арифметическое значение (M): площади почечных телец, клубочков в них, площади мочевого пространства и ширины просвета капсулы, отношение площади клубочка к площади почечного тельца как по каждому животному, так и в группе. Для всех средних рассчитывались сигмальное отклонение (σ) и стандартная ошибка среднего значения (m). Распределение почечных телец и почечных клубочков на группы осуществлялось с учетом сигмальных отклонений, размеры для телец и клубочков принимались: $< M - 2\sigma$ — очень маленькие, $< M - \sigma$ — малые, $M \pm \sigma$ — средние, $> M + \sigma$ — большие, $> M + 2\sigma$ — очень большие.

При анализе различий между данными, полученными для групп экспериментальных животных, проводили проверку вариационных рядов на нормальность распределения. Когда гипотеза о нормальности распределения отвергалась, использовали непараметрические критерии Вилкоксона — Манна — Уитни. В остальных случаях статистическая значимость различий средних величин рассчитывалась с помощью программы *Microsoft Office Excel* через статистические методы *TTEST*, при установке хвосты = 2 (использовалось двустороннее распределение), тип = 3 (для неравных отклонений). Для оценки различий качественных признаков использовался z -критерий. Различия считались статистически значимыми при значениях $p \leq 0,05$ [5]. Средние величины приводятся в тексте со стандартным отклонением (σ).

Корреляционный анализ проводился для установления корреляционных взаимосвязей между размерами почечных телец и клубочков, между размерами клубочков и относительной площадью, занимаемой ими в почечных тельцах. Проводилась оценка силы связи между переменными: коэффициент корреляции меньше 0,3 — связь слабая (отсутствует); в интервале 0,3–0,7 — связь средняя; в интервале 0,7–1,0 — связь сильная (полная); положительный коэффициент корреляции

свидетельствует об одновременном возрастании средних значений в исследуемой паре, отрицательный — о снижении средних значений в одном члене пары при возрастании в другом [5].

Все действия, предусматривавшие контакты с экспериментальными животными, проводились с соблюдением международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным (2008) и Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986).

Результаты эксперимента

После трех месяцев поступления в организм кремния у мышей из группы, получавшей его, была гладкая, блестящая шерсть с ярко выраженным подшерстком, что заметно отличало их по внешнему виду от мышей контрольной группы.

Извлеченные почки мышей обеих групп не имели макроморфологических отличий, взвешивание органов показало, что относительный вес правой почки сопоставим для обеих групп и колеблется от 0,65 до 0,70 %, в то время как удельный вес левой почки у мышей контрольной группы колеблется от 0,60 до 0,70 %, а у мышей, получавших с питьевой водой кремний, — от 0,50 до 0,60 %.

Изучение гистологических препаратов показало, что поступление водорастворимого соединения кремния с питьевой водой в течение трех месяцев приводит к следующим изменениям микроморфологии почек: визуально обращает на себя внимание расширение мочевого пространства в почечных тельцах. Кроме того, наблюдается появление почечных телец большого размера (рис. 1).

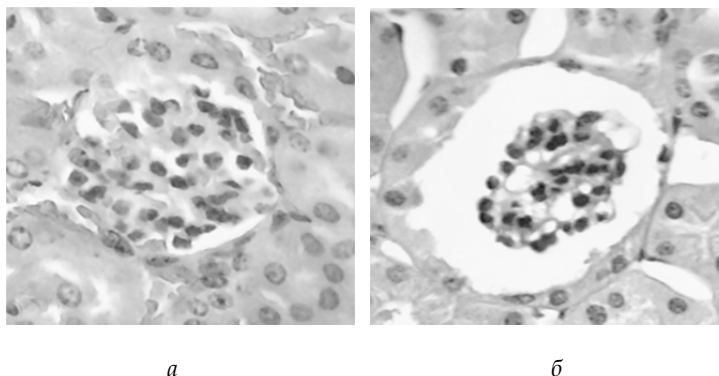


Рис. 1. Почечное тельце (окр. — гематоксилин-эозин, микроскоп «Микмед-5», ок. 10, об. 40):

a — мышь из контрольной группы; *б* — мышь, получавшая с питьевой водой кремний

Морфометрические измерения полностью подтвердили визуальную картину. Так, для мышей контрольной и подопытной групп средняя площадь почечных телец составила $3373,32 \pm 1187,55$ и $3508,06 \pm 1125,33$ $\mu\text{м}^2$ соответственно; средняя площадь клубочков —



2180,01 ± 866,65 и 1941,6 ± 1437,92 мкм² соответственно ($p < 0,05$). Вместе с тем средняя площадь мочевого пространства оказалась 1193,30 ± 676,18 и 1566,47 ± 822,94 мкм², а средняя ширина просвета капсулы — 8,83 ± 4,14 и 6,47 ± 3,26 мкм² для мышей контрольной и подопытной групп соответственно. Отношение площади клубочка к площади почечного тельца было значительно меньше у мышей, получавших с питьевой водой кремний, — 54,44 ± 17,39 % (у контрольной группы — 64,84 ± 14,52 %).

Интересные результаты показал корреляционный анализ — коэффициенты корреляции оказались следующими (первая цифра — для контрольной группы, вторая — для подопытной):

- между размерами почечных телец и клубочков — 0,83 и 0,82;
- между размерами клубочков и относительной площадью, занимаемой ими в почечных тельцах, — 0,17 и 0,62;
- между размерами почечных телец и относительной площадью, занимаемой в них клубочками, — 0,04 и 0,12;
- между площадью мочевого пространства и площадью клубочка — 0,17 и 0,06;
- между площадью мочевого пространства и площадью почечного тельца — 0,69 и 0,62.

Обратила на себя внимание связь средней силы между размерами клубочков и относительной площадью, занимаемой ими в почечных тельцах ($r = 0,62$), у мышей, получавших с питьевой водой кремний, в то время как остальные данные являются сопоставимыми. Это обстоятельство наводит на мысль, что изменение в соотношении площади клубочка к площади почечного тельца происходит в первую очередь за счет уменьшения площади клубочка, а не за счет увеличения размеров самого тельца.

Распределение почечных телец и клубочков по размерам приведено в таблицах 1, 2.

Таблица 1

**Количественные характеристики почечных телец мышей
контрольной и подопытной групп**

Параметр	Группа экспериментальных животных			
	контрольная		подопытная	
	абс.	%	абс.	%
Доля почечных телец:				
очень маленьких	5	1,4	4	1
малых	39	10,8	43	11,2
средних	262	72,6	271	70,4
больших	41	11,3	40	10,4
очень больших	9	2,5	17	4,4
Количество почечных телец, подвергшихся анализу, шт.	361	100	385	100

**Количественные характеристики почечных клубочков мышей
контрольной и подопытной групп**

Параметр	Группа экспериментальных животных			
	контрольная		подопытная	
	абс.	%	абс.	%
Доля почечных клубочков: очень маленьких	3	0,8	5	1,3
малых	46	12,7	115	29,9
средних	262	72,6	231	60
больших	38	10,6	16	4,2
очень больших	7	1,9	7	1,8
Количество почечных клубочков, под- вергшихся анализу, шт.	361	100	385	100

* Различия с контрольной группой статистически значимы, $p < 0,05$.

Данные таблицы 1 показывают, что распределение почечных телец по размеру сопоставимо для мышей обеих групп. Имеется некоторое увеличение доли больших и очень больших почечных телец, однако эти различия не являются статистически значимыми.

Показатели, приведенные в таблице 2, свидетельствуют, что у мышей, получавших кремний с питьевой водой, наблюдается снижение доли клубочков среднего размера за счет увеличения доли клубочков малого размера.

Соотношение площадей почечного клубочка к площади почечного тельца составило для мышей из контрольной и подопытной групп 71,65 и 41,00 % соответственно, что может свидетельствовать о начальном этапе формирования почечной недостаточности.

Вывод. Через три месяца поступления в организм кремния в концентрации 10 мг/л с питьевой водой *ad libitum* можно зафиксировать морфологическую реакцию почек, которая заключается в уменьшении размеров почечных клубочков при неизменных размерах почечных телец. В связи с этим представляет интерес контроль динамики морфологических изменений почечных телец при хроническом поступлении в организм кремния.

Список литературы

1. ГОСТ Р 52109-2003. Вода питьевая, расфасованная в емкости. Общие технические условия. М., 2003.
2. СанПиН 2.1.4.1116-02 Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды, расфасованной в емкости. Контроль качества. М., 2002.
3. Зайцева Н.В., Землянова М.А., Звездин В.Н. и др. Влияние наночастиц диоксида кремния на морфологию внутренних органов у крыс при пероральном введении // Анализ риска здоровью. 2016. №4. С. 80–94.
4. Ковальский В.В., Сусликов В.Л. Кремниевые субрегионы биосферы СССР // Труды биогеохим. лаб. М., 1980. Т. 18. С. 3–58.



5. Медик В. А., Токмачёв М. С., Фишман Б. Б. Статистика в медицине и биологии. Т. 1 : Теоретическая статистика. М., 2000.
6. Сапожников С. П., Гордова В. С. Роль соединений кремния в развитии аутоиммунных процессов // Микроэлементы в медицине. 2013. №3. С. 3–13.
7. Сапожников С. П. Эколого-биогеохимические факторы среды обитания и здоровья. Чебоксары, 2001.
8. Abeywickrama B., Ralapanawa U., Chandrajith R. Geoenvironmental factors related to high incidence of human urinary calculi (kidney stones) in Central Highlands of Sri Lanka // Environ. Geochem. Health. 2016. Vol. 38(5). P. 1203–1214.
9. Barel A., Calomme M., Timchenko A. et al. Effect of oral intake of choline-stabilized orthosilicic acid on skin, nails and hair in women with photodamaged skin // Arch. Dermatol. Res. 2005. Vol. 297(4). P. 147–153.
10. Flythe J. E., Rueda J. F., Riscoe M. K., Watnick S. Silicate nephrolithiasis after ingestion of supplements containing silica dioxide // Am. J. Kidney Dis. 2009. Vol. 54(1). P. 127–130.
11. Fujii Y., Arimura Y., Waku M. et al. A case of IgA nephropathy associated with silicosis // Nihon Jinzo Gakkai Shi. 2001. Vol. 43(7) P. 613–618.
12. Ghahramani N. Silica nephropathy // Int J Occup Environ Med. 2010. Vol. 1(3). P. 108–115.
13. Gluhovschi G., Velciov S., Petrica L., Gluhovschi C. Aspects of renal-pulmonary pathogenic relationships in chronic kidney disease and chronic pulmonary diseases--a less-known connection // Rom. J. Intern. Med. 2014. Vol. 52(2). P. 68–77.
14. Guo J., Shi T., Cui X. et al. Effects of silica exposure on the cardiac and renal inflammatory and fibrotic response and the antagonistic role of interleukin-1 beta in C57BL/6 mice // Arch Toxicol. 2016. Vol. 90(2). P. 247–258.
15. Iavicoli I., Fontana L., Nordberg G. The effects of nanoparticles on the renal system // Crit. Rev. Toxicol. 2016. Vol. 46(6). P. 490–560.
16. Inahara M., Amakasu M., Nagata M., Yamaguchi K. Silicate calculi: report of four cases // Hinyokika Kiyo. 2002. Vol. 48(6). P. 359–362.
17. Jurkić L. M., Ceganec I., Pavelić S. K., Pavelić K. Biological and therapeutic effects of ortho-silicic acid and some ortho-silicic acid-releasing compounds: New perspectives for therapy // Nutrition & Metabolism. 2013. Vol. 10:2.
18. Keeler R. F. Silicon metabolism and silicon-protein matrix interrelationship in bovine urolithiasis // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1963. Vol. 5(104). P. 592–611.
19. Lang K. J., Nielsen B. D., Waite K. L. et al. Supplemental silicon increases plasma and milk silicon concentrations in horses // J. Anim. Sci. 2001. Vol. 79(10). P. 2627–2633.
20. Lee M. H., Lee Y. H., Hsu T. H. et al. Silica stone--development due to long time oral trisilicate intake // Scand. J. Urol. Nephrol. 1993. Vol. 27(2). P. 267–269.
21. Li L., Liu T., Fu C. et al. Biodistribution, excretion, and toxicity of mesoporous silica nanoparticles after oral administration depend on their shape // Nanomedicine. 2015. Vol. 11(8). P. 1915–1924.
22. Martin K. R. Silicon: the health benefits of a metalloid // Met. Ions Life Sci. 2013. Vol. 13. P. 451–473.
23. Mascarenhas S., Mutnuri S., Ganguly A. Deleterious role of trace elements – Silica and lead in the development of chronic kidney disease // Chemosphere. 2017. Vol. 177. P. 239–249.
24. Millerick-May M. L., Schrauben S., Reilly M. J., Rosenman K. D. Silicosis and chronic renal disease // Am J. Ind. Med. 2015. Vol. 58(7). P. 730–736.
25. Nishizono T., Eta S., Enokida H. et al. Renal silica calculi in an infant // Int. J. Urol. 2004. Vol. 11(2). P. 119–121.
26. Occupational Safety and Health Administration (OSHA), Department of Labor. Occupational Exposure to Respirable Crystalline Silica. Final rule. Fed Regist. 2016. Vol. 81(58). P. 16285–16890.

27. Osborne C.A., Jacob F., Lulich J.P. et al. Canine silica urolithiasis. Risk factors, detection, treatment, and prevention // *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.* 1999. Vol. 29(1). P. 213–230.
28. Rathnamali B.G., Samarajitwa G., Abeyratne D.D. et al. Acute kidney injury following ingestion of plate developer (sodium metasilicate): a case report // *BMC Res Notes.* 2016. Vol. 22:9(1). P. 412.
29. Riccò M., Thai E., Cella S. Silicosis and renal disease: insights from a case of IgA nephropathy // *Ind. Health.* 2016. Vol. 54(1). P. 74–78.
30. Sponholtz T.R., Sandler D.P., Parks C.G., Applebaum K.M. Occupational exposures and chronic kidney disease: Possible associations with endotoxin and ultrafine particles // *Am. J. Ind. Med.* 2016. Vol. 59(1). P. 1–11.
31. Sripanyakorn S., Jugdaohsingh R., Dissayabutr W. et al. The comparative absorption of silicon from different foods and food supplements // *Br. J. Nutr.* 2009. Vol. 102, №6. P. 825–834.
32. Stratta P., Canavese C., Messuerotti A. et al. Silica and renal diseases: no longer a problem in the 21st century? // *J. Nephrol.* 2001. Vol. 14(4). P. 228–247.
33. Taşdemir M., Fuğucuoğlu D., Özman O. et al. Silicate calculi, a rare cause of kidney stones in children // *Pediatr Nephrol.* 2017. Vol. 32(2). P. 371–374.
34. Vupputuri S., Parks C.G., Nylander-French L.A. et al. Occupational silica exposure and chronic kidney disease // *Ren Fail.* 2012. Vol. 34(1). P. 40–46.
35. Wickett R.R., Kossmann E., Barel A. et al. Effect of oral intake of choline-stabilized orthosilicic acid on hair tensile strength and morphology in women with fine hair // *Arch. Dermatol Res.* 2007. Vol. 299(10). P. 499–505.
36. Zane A., McCracken C., Knight D.A. et al. Uptake of bright fluorophore core-silica shell nanoparticles by biological systems // *Int. J. Nanomedicine.* 2015. Vol. 20;10. P. 1547–1567.

Об авторах

Валентина Сергеевна Гордова — канд. мед. наук, доц., Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград.

E-mail: crataegi@rambler.ru

Александра Игоревна Прохорова — студентка, Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, Чебоксары.

Валентина Ефремовна Сергеева — д-р биол. наук, проф., Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, Чебоксары.

E-mail: kaf-biology@yandex.ru

About the authors

Dr Valentina S. Gordova — Assistant, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad.

E-mail: crataegi@rambler.ru

Alexandra I. Prohorova — Student, I.N. Ulianov Chuvash State University, Cheboksary.

Prof. Valentina E. Sergeeva, I.N. Ulianov Chuvash State University, Cheboksary.
E-mail: kaf-biology@yandex.ru