

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра радиофизики и нелинейной динамики

Синхронизация колебаний в динамике нефронов

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студента 4 курса 421 группы
направления 03.03.03 «Радиофизика»
физического факультета
Черняева Юрия Николаевича

Научный руководитель
профессор, д.ф.-м.н., профессор _____ А.Н. Павлов

Зав. кафедрой
д.ф.-м.н., профессор _____ В.С. Анищенко

Саратов 2017 год

ВВЕДЕНИЕ

Синхронизация динамики автоколебательных систем [1–3] является одним из универсальных явлений природы, и проявления этого эффекта в окружающем мире очень многочисленны, включая функционирование объектов живой природы. Одним из ярких примеров синхронизации в динамике физиологических систем служит функционирование структурных элементов почки – нефронов [4]. Нефрон – это объект очень малого размера (около 100 мкм), который участвует в фильтрации крови от различных примесей, а также осуществляет регуляцию кровяного давления. С этой целью нефроны объединены в параллельные структуры – нефронные деревья, на небольших «ветвях» которых располагается 2-3 нефрона, а соединительными элементами являются мелкие кровеносные сосуды – артериолы. Такой принцип организации структурных элементов почки предполагает наличие взаимодействия между ними, поэтому эффект синхронизации в функционировании нефронов является ожидаемым [4, 5]. Отметим, что почка содержит очень большое число нефронов – около миллиона у человека, около 30 000 – у крысы. По этой причине изучать динамику отдельных нефронов, то есть анализировать процессы на микроуровне отдельных функциональных элементов является крайне сложной задачей, которая, однако, успешно решается. К настоящему времени проведены многочисленные исследования динамики нефронов и на уровне больших ансамблей, и на уровне отдельных структурных элементов и их малых групп (2-3 нефрона, ответвляющихся от одной междольковой артерии). Каждый нефрон может самостоятельно регулировать химический и ионный состав плазмы крови посредством ее фильтрации.

Динамика нефронов в последнее время вызывает интерес специалистов, исследующих формирование почечной гипертензии. Такой интерес появился после обнаружения ряда экспериментальных фактов, которые позволили выявить значительные отличия в авторегуляции почечного кровотока при нормальном артериальном давлении и при почечной гипертензии [4].

Соответствующие отличия выявляются на разных уровнях организации – как для микроуровне отдельных нефронов и их малых групп, так и на макроуровне всей почки. Ранее проводившиеся исследования позволили установить, что в процессе формирования почечной гипертензии наблюдаются существенные изменения в деятельности механизмов, регулирующих скорость кровотока в мелких кровеносных сосудах, и давление крови, протекающей по ним. При почечной гипертензии кооперативная динамика структурных элементов почки становится менее «управляемой» - ослабляются связи между нефронами, и каждый из них демонстрирует поведение, менее согласованное с соседними структурными элементами. Попытки разобраться в сущности процессов, протекающих на уровне нефронов, и приводящих к появлению синхронных состояний, осуществлялись как в ходе анализа экспериментальных данных, так и в рамках математического моделирования.

К настоящему времени опубликовано много работ, в которых эффекты синхронизации изучались на уровне малых групп нефронов. Тем не менее, по-прежнему сохраняется значительный интерес к развитию методов диагностики взаимодействия ритмических процессов в динамике нефронов. Такая диагностика может проводиться на основе вейвлет-анализа [6, 7].

Целью выпускной квалификационной работы является изучение эффекта синхронизации колебаний в динамике больших групп нефронов, расположенных вблизи поверхности почки на основе анализа экспериментальных данных.

Материалы исследования. Исследования проводились на основе вейвлет-анализа экспериментальных данных. В качестве метода исследования использовались расчеты непрерывного вейвлет-преобразования с базисной функцией Морле [6].

Выпускная квалификационная работа содержит введение, две главы (1 – Краткие теоретические сведения; 2 – Результаты проведенных исследований), заключение и список использованных источников. Общий объем работы 42 стр.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Краткие теоретические сведения. Нефрон является примером автоколебательной системы биологического происхождения, которая обладает положительной обратной связью и осуществляет генерацию незатухающих колебаний, имеющих две характерных (независимых) частоты [4]. Многочисленные исследования позволили установить, что при рассмотрении функционирования парных нефронов диагностируется эффект захвата этих независимых частот – либо обеих (полная синхронизация), либо только одной частоты (частичная синхронизация) [8]. Причем, первый случай преимущественно наблюдается при нормальном артериальном давлении, а второй – при повышенном артериальном давлении в случае почечной гипертензии. Учитывая то обстоятельство, что синхронизация может наблюдаться только для автоколебательных систем, синхронизация парных нефронов свидетельствует об автоколебательной природе структурных элементов почки.

Для более детального исследования динамики нефронов были предприняты различные попытки математического моделирования структурных элементов почки. Наибольшую известность приобрела модель одиночного нефрона, предложенная в работе Барфреда с соавторами [9], которая позволяет описать процесс авторегуляции кровотока и проанализировать изменение динамики при варьировании управляющих параметров. В ходе исследований данной модели было показано, что процесс перехода от регулярных колебаний к хаотическим хорошо описывает изменения, наблюдаемые в экспериментальных данных при развитии почечной гипертензии. В соответствии с моделью [9], процесс авторегуляции кровотока на уровне индивидуального нефрона описывается системой 6 обыкновенных дифференциальных уравнений вида:

$$\frac{dP_t}{dt} = \frac{1}{C_{tub}} [F_{filt}(P_t, r) - F_{reab} - F_{Hen}(P_t)],$$
$$\frac{dr}{dt} = v_r,$$

$$\begin{aligned}
\frac{dv_r}{dt} &= \frac{P_{av}(P_t, r) - P_{eq}(r, \Psi(X_3, \alpha), T)}{\omega} - v_r d, \\
\frac{dX_1}{dt} &= F_{Hen}(P_t) - \frac{3X_1}{T}, \\
\frac{dX_2}{dt} &= \frac{3(X_1 - X_2)}{T}, \\
\frac{dX_3}{dt} &= \frac{3(X_2 - X_3)}{T},
\end{aligned} \tag{1}$$

где P_t – гидростатическое давление фильтрата в проксимальном канальце нефрона, F_{fit} – поток фильтрата из клубочка, F_{reab} – реабсорбируемый поток в проксимальном канальце, F_{Hen} – поток в начальной части петли Генли. Нормировочный коэффициент C_{tub} характеризует изменения объема проксимального канальца, вызванные изменением давления фильтрата внутри канальца. Параметр r задает величину радиуса приносящей артериолы, v_r – скорость сокращения или растяжения артериолы, а параметр d характеризует скорость затухания колебаний (то есть величину демпфирования), значение ω представляет собой отношение масса-эластичность стенок артериолы, P_{av} задает среднее давление в выносящей артериоле, P_{eq} – равновесное давление в приносящей артериоле, X_1 , X_2 , X_3 – вспомогательные переменные, используемые для математического описания механизма обратной связи, а T – время задержки.

Мышечный тон представляет собой функцию, которая зависит от скорости потока жидкости в дистальном канальце и параметра α , характеризующего усиление в цепи КГОС:

$$\Psi\left(\frac{3X_3}{T}\right) = \Psi_{\max} - \frac{\Psi_{\max} - \Psi_{\min}}{1 + e^{\alpha\left(\frac{3X_3}{TF_{Hen0}} - S\right)}}, \quad S = 1 - \frac{1}{\alpha} \ln\left(\frac{\Psi_{eq} - \Psi_{\min}}{\Psi_{\max} - \Psi_{eq}}\right) \tag{2}$$

Переход к хаосу в модели (1) осуществляется через каскад бифуркаций удвоения периода. Отметим, что и при анализе экспериментальных данных давления жидкости в проксимальном канальце нефрона также можно найти некоторые возможные «следы» субгармонического каскада бифуркаций – существуют фрагменты экспериментальных данных, в пределах которых идентифицируются колебания удвоенного периода (чередование локальных

максимумов сигнала проксимального давления, и при этом амплитуда колебаний приближенно повторяется через два характерных периода медленного ритма). Однако из-за нестационарности динамики обнаруживать следы субгармонического каскада в спектре мощности довольно сложно. Нестационарность приводит к тому, что происходит «расплывание» спектральных пиков, и это существенно осложняет анализ амплитуд субгармоник. Кроме того, сказывается небольшая длительность экспериментальных данных, не позволяющая детально изучать субгармоники ритма КГОС.

В ранее проводившихся исследованиях изучалась не только динамика одиночных нефронов, но и парных нефронов. При этом были рассмотрены два механизма связи – связь с помощью электрохимических сигналов и гемодинамическая связь (перераспределение потока крови между нефронами). В ходе изучения влияния электрохимической связи (которая задавалась параметром связи γ) было обнаружено, что в динамике неидентичных парных нефронов могут наблюдаться режимы полной синхронизации (захват частот или фаз и для медленных ритмов, и для быстрых) и режимы частичной синхронизации (синхронная динамика только медленных ритмов или только быстрых ритмов).

Результаты проведенных исследований. Важная роль в авторегуляции почечного кровотока и скорости гломерулярной фильтрации отводится механизму канальцево-гломерулярной обратной связи (КГОС). Из-за задержки по времени, требующейся для передачи сигнала по цепи обратной связи, механизм КГОС приводит к возникновению автоколебаний проксимального давления и кровотока на уровне индивидуального нефрона [4]. Взаимодействие между механизмами КГОС парных нефронов приводит к синхронизации их колебаний [8], которая, вероятно, происходит вследствие обмена электрическими сигналами, распространяющимися вдоль артериол. До недавнего времени эксперименты по синхронизации ограничивались измерениями, проводившимися для двух-трех нефронов. Полученные при этом

результаты свидетельствуют о том, что более двух нефронов могут демонстрировать режим синхронной динамики. Однако технические ограничения существующих методологий не позволяли проводить оценку числа нефронов, формирующих синхронизированные группы в любой момент времени, и оценку факторов, влияющих на изменение размера группы. Для решения этой задачи необходим метод одновременного измерения динамических явлений во многих нефронах. Таким методом является лазерная спекл-интерферометрия [10], позволяющая измерять относительные изменения во времени кровотока во многих нефронах вблизи поверхности почки анестезированных крыс.

Для проведения экспериментов на крысах использовалась камера Moor FLPI (Moor Instruments, Millwey, Axminster, UK). Эксперименты проводились в течение 30-40 минут. В каждом эксперименте после завершения регистрации динамики спеклов проводилась дополнительная регистрация цифрового изображения поверхности почки с помощью цифровой камеры (Nikon D70), позволяющая идентифицировать расположение нефронов. С применением данного подхода в каждом эксперименте удавалось идентифицировать динамику примерно 50-60 корковых нефронов.

Анализ полученных временных зависимостей скорости кровотока в выносящих артериолах нефронов проводился с помощью непрерывного вейвлет-преобразования с комплексным базисом, построенным на основе функции Морле. Мерой синхронной динамики нефронов являлось среднеквадратичное отклонение D мгновенных частот парных структурных элементов почки. Чем меньше величина D , тем больше степень взаимодействия (синхронизации) нефронов, и наоборот.

В соответствии с ранее существовавшими представлениями, синхронизация должна наблюдаться только для нефронов, ответвляющихся от одной междольковой артерии, что подразумевает локальный характер синхронных кластеров - чем дальше находятся нефроны друг от друга, тем слабее эффект их взаимодействия. Однако проведенные исследования

свидетельствуют о том, что эта точка зрения нуждается в пересмотре. Расчет меры синхронной динамики D в зависимости от расстояния между артериолами нефронов r не демонстрирует уменьшения данной величины с ростом r . Этот результат означает, что формирование синхронных кластеров не носит исключительно локальный характер - удаленные нефроны могут демонстрировать эффект захвата мгновенных частот колебаний, аналогичный эффекту, наблюдаемому для соседних структурных элементов почки.

Таким образом, синхронный кластер нефронной динамики носит глобальный характер, и нефроны, участвующие в динамике данного кластера, относятся не только к одной междольковой артерии, и даже не только к одному нефронному “дереву”. Эти нефроны, очевидно, должны относиться к разным нефронным “деревьям”, что означает наличие механизмов кооперативной динамики данных структур. Чтобы оценить число нефронов, участвующих в формировании синхронных структур (кластеров), можно представить соответствующие зависимости мгновенных частот на одном рисунке, однако такой способ представления является не очень наглядным. По этой причине представляется целесообразным использовать другие варианты визуализации динамики.

Используемый метод ЛСИ обеспечивает высокое пространственное разрешение и, при проведении анализа динамики почечного кровотока, высокое временное разрешение. Этот метод позволяет измерять кровотоки одновременно во многих точках вблизи поверхности почки с относительно большой частотой выборки. При проведении анализа экспериментальных данных он позволяет идентифицировать ритмическую активность, обусловленную наличием как механизма КГОС (0.02-0.04 Гц), так и миогенного механизма (0.1-0.2 Гц). Осуществление выборки с частотой 1 Гц является достаточным для оценок частот и амплитуд соответствующих ритмов.

У метода ЛСИ есть дополнительное преимущество, состоящее в том, что помимо обнажения почки и помещения ее в пластмассовую чашку, процесс проведения экспериментов не требует дополнительных инструментов

измерения, таких как измерители потока крови, размещенные в ренальной артерии, или микропипеток, помещенных в канальцах. Лазерный доплеровский метод, адаптированный для использования в почечных выносящих канальцах, также не требует никаких прямых манипуляций с почкой, но он позволяет измерять скорость кровотока только в единственной артериоле.

Метод ЛСИ является инструментом, позволяющим обнаруживать эффект синхронизации в динамике отдельных нефронов, формирование синхронных структур в динамике больших групп структурных элементов почки, выявлять и оценивать важность факторов, влияющих на синхронизацию и на сформировавшиеся синхронные структуры. Синхронизация возможна только в присутствии взаимодействия между нелинейными системами с регулярной или хаотической динамикой. Рассматриваемый механизм КГОС является нелинейным механизмом обратной связи, который приводит к генерации автономных колебаний, вызванной задержкой при движении фильтрата по петле Генле. Этот механизм на уровне каждого нефрона приводит к генерации ритмического процесса, который является основой для синхронизации соседних структурных элементов почки. Активация КГОС в одном нефроне влияет на сопротивление сосудов в другом нефроне, что приводит к взаимодействию между нефронами. Синхронизированные колебания малых групп нефронов должны приводить к колебаниям кровотока в артерии, то есть к эффекту кооперативной динамике больших нефронных структур, вызванной электрической передачей сигналов.

Тест на синхронизацию обычно проводится путем исследования явления захвата частот или фаз двух и более осцилляторов, который является отражением взаимодействия между ними. Применение таких мер для каждой из примерно 1500 пар временных зависимостей является чрезвычайно трудоемкой процедурой. По этой причине целесообразно применять различные алгоритмы кластеризации, позволяющие обнаруживать группы нефронов со сходной динамикой. В качестве меры для количественного сравнения динамики индивидуальных структурных элементов почки была выбрана

среднеквадратичная разность мгновенных частот КГОС-колебаний. С применением данной меры было установлено, что в более 80% экспериментах формируется один большой кластер синхронной динамики, включающий несколько десятков структурных элементов, идентифицируемых вблизи поверхности почки методом ЛСИ.

Суммируя результаты проведенных исследований, в рамках данной работы был использован метод ЛСИ для анализа динамики больших групп нефронов, идентифицируемых вблизи поверхности почки анестезированных крыс, в течение относительно длительных интервалов времени (30-40 мин). Было подготовлено программное обеспечение для извлечения временных зависимостей контрастов спеклов из каждого пикселя, определяющего расположение выносящей артериолы (общее число возможных пикселей составляет 442 000). Таким образом, из общего объема экспериментальной записи идентифицировались только сигналы, ассоциирующиеся с индивидуальными нефронами, и только эти сигналы подвергались дальнейшей обработке на основе вейвлет-анализа.

Данный подход на основе ЛСИ и вейвлет-анализа позволяет идентифицировать синхронные колебания в 50 и более нефронах, расположенных в непосредственной близости от поверхности почки. Отметим, что эффект синхронизации (проявляющийся в разной степени) был обнаружен во всех проведенных экспериментах (18 крыс). С помощью вейвлет-анализа экспериментальных данных была также обнаружена значительная вариация во времени частот колебаний и кластеров синхронизации нефронов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В выпускной квалификационной работе рассмотрена задача синхронизации динамики нефронов – структурных элементов почки. Актуальной проблемой в настоящее время является выявление роли очень медленных ритмов (с периодом более 200 секунд) и их влияния на известные

механизмы авторегуляции, такие как КГОС. Исследования последних лет свидетельствуют о важной роли соответствующих ритмических процессов в динамике почечного кровотока, однако их анализ осложняется требованием большой длительности экспериментальных данных. Кроме того, в силу нестационарности физиологических процессов характеристики очень медленных ритмов, такие как частота и амплитуда, могут существенно варьироваться во времени. Это ограничивает применимость стандартных методов цифровой обработки сигналов, использующих классический спектральный анализ. Принципиальная возможность изучать динамику очень медленных ритмов авторегуляции связана с развитием методов локализованного спектрального анализа, основанного на вейвлет-преобразовании.

В данной работе приведены результаты, свидетельствующие о том, что динамика очень медленных ритмов авторегуляции связана с синхронизацией больших групп нефронов. Важно отметить, что согласно существовавшим ранее теоретическим представлениям, эффект синхронизации ожидалось обнаружить только для структурных элементов почки, относящихся к одному нефронному дереву. Однако проведенные исследования показывают, что взаимодействие между большими группами нефронов является более сложным и разнообразным, чем считалось ранее.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Блехман, И. И. Синхронизация в природе и технике / И. И. Блехман. – М.: Наука, 1981. – 352 с.
2. Пиковский, А. Синхронизация. Фундаментальное нелинейное явление / А. Пиковский, М. Розенблюм, Ю. Куртс. – М.: Техносфера, 2003. – 508 с.
3. Анищенко, В. С. Синхронизация регулярных, хаотических и стохастических колебаний / В.С. Анищенко, В.В. Астахов, Т.Е. Вадивасова, Г.И. Стрелкова. – М., Ижевск: Изд-во Института компьютерных исследований, 2008. – 144 с.

4. Holstein-Rathlou, N.-H. Oscillations of proximal tubular pressure, flow, and distal tubular pressure and chloride concentration in rats / N.-H. Holstein-Rathlou, D. J. Marsh // *Am. J. Physiol. Renal Fluid Electrolyte Physiol.* – 1989. – Vol. 256. – P. F1007–F1014.
5. Marsh, D. J. Vascular coupling induces synchronization, quasiperiodicity, and chaos in a nephron tree / D. J. Marsh, O. V. Sosnovtseva, E. Mosekilde, N.-H. Holstein-Rathlou // *Chaos.* – 2007. – Vol. 17. – P. 015114.
6. Астафьева, Н. М. Вейвлет-анализ: основы теории и примеры применения / Н. М. Астафьева // *Успехи физических наук.* – 1996. – Т. 166, № 11. – С. 1145–1170.
7. Дремин, И. М. Вейвлеты и их использование / И. М. Дремин, О. В. Иванов, В. А. Нечитайло // *Успехи физических наук.* – 2001. – Т. 171, № 5. – С. 465–501.
8. Sosnovtseva, O. V. Synchronization among mechanisms of renal autoregulation is reduced in hypertensive rats / O. V. Sosnovtseva, A. N. Pavlov, E. Mosekilde, K.-P. Yip, N.-H. Holstein-Rathlou, D. J. Marsh // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2007. – Vol. 293. – P. F1545–F1555.
9. Barfred, M. Bifurcation analysis of nephron pressure and flow regulation / M. Barfred, E. Mosekilde, N.-H. Holstein-Rathlou // *Chaos.* – 1996. – Vol. 6. – P. 280–287.
10. Briers, D. Laser speckle contrast imaging: theoretical and practical limitations / D. Briers, D. D. Duncan, E. Hirst, S. J. Kirkpatrick, M. Larsson, W. Steenbergen, T. Stromberg, O. B. Thompson // *J. Biomed. Opt.* – 2013. – Vol. 18(6). – P. 066018.