

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОЧЕК КРЫС РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГРАВИТАЦИОННЫХ ПЕРЕГРУЗОК

Волковец Д.В., Кривенцов М.А.

ГУ "Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского"

Волковец Д.В., Кривенцов М.А. Структурные изменения почек крыс различных возрастных групп при воздействии гравитационных перегрузок // Украинський морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 2. – С. 20-23.

В эксперименте исследованы структурные изменения клеток паренхимы почки крыс при воздействии гипергравитации на протяжении 10 и 30 дней. По результатам проведенных описательного гистологического, гистоморфометрического и электронномикроскопического методов исследования выявлено, что клетки паренхимы почки претерпевают значительные изменения при действии фактора гипергравитации. В статье приводятся данные анализа выявленных изменений с выделением основных возможных патогенетических механизмов негативного воздействия перегрузок.

Ключевые слова: гипергравитация, почка, морфология.

Волковец Д.В., Кривенцов М.А. Структурні зміни нирок щурів різних вікових груп за умов дії гравітаційних перевантажень // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 2. – С. 20-23.

В експерименті досліджено структурні зміни клітин паренхіми нирки щурів при дії гіпергравітації протягом 10 та 30 діб. За результатами проведених гистологічного, гистоморфометричного та електронномікроскопічного методів дослідження виявлено, що клітини паренхіми нирки значно змінюються при дії гіпергравітації. У статті наводяться дані аналізу виявлених змін з виділенням основних можливих патогенетичних механізмів негативної дії перевантажень.

Ключові слова: гіпергравітація, нирка, морфологія.

Volkovets D.V. Kriventsov M.A. Structural changes in rat's kidney under influence of the hypergravity factor // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 2. – С. 20-23.

The aim of this experimental work is to investigate structural changes in rat's kidney under the influence of the hypergravity factor for 10 or 30 days. Results of the histological, histomorphometry and electron microscope research methods have shown significant changes of the kidney cells. The article presents analysis data of the revealed changes with the identification of the main pathogenetic mechanisms of the possible negative impacts of the back-to-chest acceleration.

Key words: hypergravity, kidney, morphology.

На всех этапах фило-онтогенеза организм находится под воздействием фактора гравитации (силы тяжести), который неразрывно связан с процессом развития и дифференцировки всех клеточных систем организма [2, 6, 7]. Учитывая постоянство влияния данного фактора, живые организмы и многоклеточные системы в чрезвычайно высокой степени адаптировались к его действию, выработав специфические механизмы, проявляющиеся повседневно, например, в механизмах венозного оттока против силы гравитации. Вместе с тем, организм является крайне неприспособленным к изменению данного фактора, поскольку, с определенной степенью уверенности, можно утверждать, что гравитационный фактор являлся константной величиной на протяжении всей истории существования жизни на Земле.

С одной стороны недостаточность приспособительных механизмов в отношении фактора гипергравитации, а с другой стороны - все возрастающая частота воздействия данного фактора на организм человека, ставят перед исследователями задачу определения негативного воздействия перегрузок на различные органы и системы, а также задачу поиска и экспериментального апробирования различных методов защиты от данного воздействия. Учитывая бурно развивающуюся не только военную, но и гражданскую авиацию и космонавтику остро возникает вопрос воздействия неблагоприятных факторов связанных с полетом на организм нетренированных лиц, включая детей, подростков и лиц пожилого возраста.

Таким образом, была поставлена **цель** - комплексно оценить на различных структурных уровнях морфологические изменения коркового вещества почек крыс различных возрастных групп под воздействием попеременно-направленных гравитационных перегрузок без применения и с применением различных способов защиты.

Для достижения поставленной цели были определены следующие **задачи**:

1. Выявить морфологические изменения основных структурно-функциональных компонентов коркового вещества почек 2-х, 6-ти и 12-ти месячных крыс в ответ на воздействие попеременно-направленных перегрузок при различной продолжительности эксперимента.

2. Изучить характер изменений в корковом веществе крыс различных возрастных периодов при воздействии гипергравитации на фоне предлагаемых методов физической защиты и фармакологической коррекции.

3. Определить закономерности характера и выраженности структурных преобразований коркового вещества почек крыс, подвергавшихся воздействию гипергравитации без применения и с применением физического или фармакологического способа защиты, в зависимости от возраста крыс и продолжительности экзогенного воздействия.

4. Установить основные возможные патогенетические механизмы развития структурных преобразований компонентов коркового вещества почек под воздействием различного по продолжительности гипергравитационного воздействия.

Материалы и методы исследования. Экспериментальное исследование проведено в рамках научно-исследовательской темы кафедры нормальной анатомии человека ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского» № 0104U002080 «Возрастные морфофункциональные особенности отдельных органов и систем организма под воздействием гравитационных перегрузок и при различных методах их коррекции».

Эксперимент был проведен на 180 белых крысах линии Вистар, которые были разделены на несколько групп, включавших три экспериментальные (Э1, Э2 и Э3) и две контрольные (К1 и К2) группы. Под-

опытных животных подвергали воздействию повторяющихся нагрузок величиной 9 g в поперечном направлении без использования какой-либо защиты (группа Э1), либо с использованием физического (Э2) или фармакологического (Э3) метода защиты. В каждой из групп выделяли по 3 подгруппы в зависи-

мости от онтогенетического периода экспериментальных животных на момент начала эксперимента - 2-х, 6-ти и 12-ти месячные. Также выделяли по 2 серии: А - период воздействия гравитационных перегрузок 10 дней, Б - период воздействия гравитационных перегрузок 30 дней (см. таблицу 1).

Таблица 1. Схема эксперимента

| Группа | Подгруппа | Возраст | Масса | Продолжительность эксперимента | Кол-во животных |
|---------------|-----------|---------|-----------|--------------------------------|-----------------|
| Контроль-1 | K1-1А | 2 мес. | 120-130 г | 10 дней | 6 |
| | K1-1Б | 2 мес. | | 30 дней | 6 |
| | K1-2А | 6 мес. | 220-240 г | 10 дней | 6 |
| | K1-2Б | 6 мес. | | 30 дней | 6 |
| | K1-3А | 12 мес. | 300-330 г | 10 дней | 6 |
| | K1-3Б | 12 мес. | | 30 дней | 6 |
| Контроль-2 | K2-1А | 2 мес. | 120-130 г | 10 дней | 6 |
| | K2-1Б | 2 мес. | | 30 дней | 6 |
| | K2-2А | 6 мес. | 220-240 г | 10 дней | 6 |
| | K2-2Б | 6 мес. | | 30 дней | 6 |
| | K2-3А | 12 мес. | 300-330 г | 10 дней | 6 |
| | K2-3Б | 12 мес. | | 30 дней | 6 |
| Эксперимент-1 | Э1-1А | 2 мес. | 120-130 г | 10 дней | 6 |
| | Э1-1Б | 2 мес. | | 30 дней | 6 |
| | Э1-2А | 6 мес. | 220-240 г | 10 дней | 6 |
| | Э1-2Б | 6 мес. | | 30 дней | 6 |
| | Э1-3А | 12 мес. | 300-330 г | 10 дней | 6 |
| | Э1-3Б | 12 мес. | | 30 дней | 6 |
| Эксперимент-2 | Э2-1А | 2 мес. | 120-130 г | 10 дней | 6 |
| | Э2-1Б | 2 мес. | | 30 дней | 6 |
| | Э2-2А | 6 мес. | 220-240 г | 10 дней | 6 |
| | Э2-2Б | 6 мес. | | 30 дней | 6 |
| | Э2-3А | 12 мес. | 300-330 г | 10 дней | 6 |
| | Э2-3Б | 12 мес. | | 30 дней | 6 |
| Эксперимент-3 | Э3-1А | 2 мес. | 120-130 г | 10 дней | 6 |
| | Э3-1Б | 2 мес. | | 30 дней | 6 |
| | Э3-2А | 6 мес. | 220-240 г | 10 дней | 6 |
| | Э3-2Б | 6 мес. | | 30 дней | 6 |
| | Э3-3А | 12 мес. | 300-330 г | 10 дней | 6 |
| | Э3-3Б | 12 мес. | | 30 дней | 6 |

Поперечно-направленные (в направлении "грудь-спина") перегрузки моделировались с использованием экспериментальной центрифуги ЦЭ-2/500 с радиусом 0,5 м и рабочим диапазоном от 1 до 50 g. Величина перегрузки составляла 9 g, градиент нарастания составлял 1,4-1,6 ед/с, спада - соответственно 0,6-0,8 ед/с. Эксперимент проводился ежедневно (на протяжении 10 или 30 дней, в зависимости от подгруппы), в одно и то же время, в течение 10 мин. Перегрузки моделировали в виде трёх временных промежутков, длительностью по 3 минуты каждый с интервалом между ними в 30 сек.

В качестве способов защиты от негативного воздействия гипергравитации в данном исследовании использовали физический способ защиты и метод фармакологической коррекции (группы Э-2 и Э-3, соответственно). Принцип предлагаемой физической защиты основан на помещении объекта, подвергающегося воздействию ускорения, в иммерсионную среду [4, 5]. Для этого крыс второй экспериментальной группы помещали в герметичный пластиковый контейнер, обеспеченный системой вентиляции, который в свою очередь помещался в металлический цилиндр, заполненный водой. Фармакологический способ защиты заключался в парентеральном применении препарата Глутаргин, в состав которого входят аминокислоты L-аргинин и глута-

миновая кислота (фармацевтическая компания "Здоровье", г. Харьков). Препарат вводили в дозировке 100 мг/кг веса животного непосредственно перед воздействием гипергравитации.

После выведения экспериментальных животных из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом с соблюдением биоэтических норм, забирали обе почки для проведения дальнейших органомерических, гистологических, гистоморфометрических и электронно-микроскопических исследований по общепринятым методикам с последующим статистическим анализом полученных результатов.

Результаты и обсуждение. Значительное по величине гипергравитационное воздействие (9 g) вызывало выраженные морфологические преобразования структур коркового вещества почек экспериментальных крыс. При проведении описательного гистологического анализа данные изменения носили типичный характер и были представлены явлениями дистрофии, некроза и отека эпителиальных клеток канальцев нефрона, неравномерностью кровенаполнения сосудов микроциркуляторного русла почечного тельца и интерстициального пространства, многочисленными очагами кровоизлияний и клеточной инфльтрацией периваскулярных пространств. На субклеточном уровне типичные изменения характеризовались интрацеллюлярным отеком, утолщением

базальной мембраны капилляров и канальцев, вакуолизацией митохондрий с деструкцией их крист, а также признаками склерозирования интерстициального пространства.

Следует отметить, что выявленные структурные изменения в различных возрастных подгруппах и при различной продолжительности эксперимента, зачастую, носили разнонаправленный характер, что, вероятно, было обусловлено различными адаптационно-приспособительными резервами организма в различные периоды онтогенеза, а также кумуляцией негативного воздействия экзогенного фактора при увеличении кратности подвергания перегрузкам до 30 сеансов.

Так, наиболее выраженные структурные изменения наблюдали в подгруппах экспериментальных крыс 2-х месячного и 12-ти месячного возраста, тогда как в подгруппах половозрелых крыс структурные преобразования носили менее выраженный характер. В частности, в подгруппе 2-х месячных крыс, подвергавшихся гипергравитационному воздействию на протяжении 30 дней, площадь почечного тельца снижалась по сравнению с контролем на 32,1%, а площадь сосудистого клубочка - на 39,9%, свидетельствуя об атрофических процессах. В подгруппе 12-ти месячных крыс отклонения от контроля данных показателей носили аналогичную направленность: значения площади почечного тельца и сосудистого клубочка снижались на 35,0% и 49,1%, соответственно. Параллельно с этим, в данных возрастных подгруппах в отношении морфометрических показателей проксимальных канальцев и, в меньшей степени, дистальных канальцев нефрона были получены сопоставимые результаты, характеризующиеся уменьшением диаметра канальцев, сужением их просвета и снижением высоты эпителиоцитов.

Применение физического способа защиты от негативного воздействия поперечно-направленных перегрузок значительных величин, в целом, не оказало ожидаемого протекторного эффекта на структуры коркового вещества экспериментальных крыс. При применении физической защиты, особенно в подгруппах 2-х и 12-ти месячных животных, морфометрические показатели почечного тельца и проксимальных канальцев нефрона характеризовались той же степенью отклонения от контроля, что и показатели в группах воздействия гипергравитации без применения защиты. Подобные отклонения от контрольных значений в подгруппе 2-х месячных крыс, подвергавшихся воздействию гипергравитации на протяжении 30 дней на фоне применения физической защиты, были представлены уменьшением площади почечного тельца на 20,7%, уменьшением площади сосудистого клубочка на 29,7%, уменьшением диаметра проксимальных канальцев на 14,1% и сужением их просвета на 18,6%. Снижение по сравнению с контролем аналогичных показателей в той же экспериментальной группе крыс предстарческого возраста составляли 22,5%, 27,6%, 31,5% и 31,6%, соответственно.

В то же время, применение в качестве фармакологической коррекции негативных последствий воздействия перегрузок препарата Глутаргин продемонстрировало неоднозначный эффект на различные структурно-функциональные компоненты коркового вещества почек экспериментальных крыс. При воздействии поперечно-направленных перегрузок на протяжении 10 дней применение глутаргина,

по большей части, нивелировало негативное воздействие на сосудистую и паренхиматозную составляющую коркового вещества почек, что подтверждалось данными ультрамикроскопического анализа. При увеличении продолжительности эксперимента до 30 суток воздействие перегрузок на фоне применения глутаргина привело к значительным по своей выраженности структурным перестройкам, характеризующимся на тканевом, клеточном и субклеточном уровнях явлениями дистрофии на фоне склерозирования стенок сосудов, интерстициального пространства и утолщения базальных мембран.

На ультраструктурном уровне ни применение физического метода защиты, ни применение глутаргина не исключали в полной мере возникновения патологических структурных преобразований, особенно при увеличении кратности воздействия перегрузок до 30 сеансов. Характерной особенностью структурных преобразований в подгруппах экспериментальных крыс, подвергавшихся воздействию гипергравитации на фоне применения глутаргина, является практически интактная ультраструктурная картина элементов почечного тельца на фоне сохраняющихся выраженных изменений в эпителиальных компонентах канальцев нефрона. Также, одной из находок при проведении ультрамикроскопического анализа структуры коркового вещества почек экспериментальных крыс, подвергавшихся воздействию гипергравитации на фоне применения глутаргина, являлась активация процессов ангиогенеза в интерстициальном пространстве.

Обобщая результаты описательного гистологического анализа, гистоморфометрического анализа и ультрамикроскопического исследования коркового вещества почек экспериментальных крыс, подвергавшихся воздействию поперечно-направленных перегрузок, в отношении возможных векторов действия данного экзогенного фактора можно выделить два основных направления:

- воздействие на сосудистый компонент, как почечного тельца, так и интерстициальной ткани;
- воздействие на эпителиальные клеточные элементы, выстилающие капсулу Шумлянско-Боумена, проксимальные и дистальные каналы нефрона.

В действительности, оба направления неблагоприятного воздействия тесно сопряжены, зачастую наслаиваясь друг на друга, запуская каскад патофизиологических реакций и отягощая общие негативные последствия. В проведенных ранее многочисленных экспериментальных и клинико-экспериментальных исследованиях [1, 3, 8] был установлен значительный эффект гипергравитации на системную гемодинамику, характеризующийся перераспределением крови в магистральных сосудах в направлении вектора ускорения. Отличительной особенностью подавляющего большинства данных исследований было использование перегрузок в направлении "голова - таз", что фактически способствовало депонированию крови в каудальных отделах туловища и нижних конечностях.

Вместе с тем, в данной экспериментальной работе мы использовали моделирование поперечно-направленных перегрузок, исключая подобное перераспределение крови в магистральных сосудах, а наблюдаемая гистологическая картина характеризовалась неравномерностью кровенаполнения сосудов микроциркуляторного русла. Однако, известно, что

сосудистый компонент паренхимы коркового вещества почки представлен трехмерной сетью, формирующейся из приносящей артериолы, кровеносных капилляров (прекапилляров, капилляров и посткапилляров) сосудистого клубочка, выносящей артериолы и сосудов микроциркуляторного русла, оплетающих канальцы нефрона. Данная структурная особенность строения сосудистого компонента почек, вероятно, объясняет неравномерность кровенаполнения сосудов, ориентация которых различна по отношению к основному вектору ускорения.

В отношении других факторов, влияющих на структурные преобразования сосудистого русла под действием перегрузок, как указывалось ранее, выраженность сосудистых изменений находилась в прямо пропорциональной зависимости от кратности экзогенного воздействия, достигая максимальных проявлений в подгруппах неполовозрелых животных и крыс предстарческого возраста. Также следует учитывать развитие адаптационно-приспособительных реакций, проявляющихся расширением сосудов микроциркуляторного русла.

Эффект применения различных способов защиты на структурные изменения сосудистого русла нельзя трактовать однозначно, поскольку, наряду с уменьшением количества очагов кровоизлияний и явлений диapedеза, наблюдались явления склерозирования стенок сосудов и периваскулярного пространства на фоне утолщения базальных мембран капилляров и канальцев. Подобные изменения нельзя рассматривать, как положительные с точки зрения функциональных возможностей органа, поскольку они приводят к другому патологическому проявлению - гипоксии. В целом, данные эффекты наиболее часто выявлялись при 30-дневной продолжительности эксперимента. С этой точки зрения, по нашему мнению, наиболее эффективным являлось применение глутаргина в экспериментальных подгруппах крыс, подвергавшихся 10-кратному гипергравитационному воздействию. В данной ситуации глутаргин оказывал положительное воздействие на элементы сосудистого компонента коркового вещества почки без наличия явных процессов склерозирования.

В отношении второго направления реализации негативных эффектов гипергравитации - воздействия на эпителиальные клетки канальцев нефрона - ни физический, ни фармакологический метод защиты не продемонстрировал достаточной эффективности. Хотя структурные изменения эпителиоцитов проксимальных и, в меньшей степени, дистальных канальцев зависели от кратности воздействия перегрузок, онтогенетического периода экспериментальных животных, применения того или иного способа защиты, во всех без исключений экспериментальных группах крыс, подвергавшихся воздействию гипергравитации, наблюдались те или иные признаки поражения данных структур, характеризующиеся явлениями дистрофии и некроза.

Возможными механизмами реализации данных структурных нарушений являются:

- прямое повреждающее действие гипергравитационного фактора;
- вторичная альтерация эпителиоцитов вследствие изменения объемов фильтрации первичной мочи и уродинамики (что частично объясняет более выраженные структурные изменения в эпителиоцитах проксимальных канальцев в сравнении с эпителиоцитами дистальных канальцев);

- вторичная альтерация эпителиальных клеток вследствие развившейся гипоксии (на что указывает утолщение базальной мембраны канальцев в некоторых экспериментальных подгруппах, подвергавшихся длительному воздействию гипергравитации).

Выводы: Таким образом, основываясь на полученных морфологических данных можно сделать следующие выводы:

1. Интенсивные по величине, поперечно-направленные перегрузки оказывают значительное негативное воздействие на паренхиму почек экспериментальных крыс, которое носит зачастую необратимый характер.
2. Степень подобного воздействия была более выраженной в подгруппах 2-х и 12-ти месячных крыс, особенно при увеличении кратности воздействия перегрузок до 30 сеансов.
3. Существует, вероятно, несколько механизмов реализации негативного воздействия гипергравитации, проявляющихся в структурных перестройках основных структурно-функциональных компонентов нефрона, а также в сосудистых изменениях.
4. Применение физического и фармакологического методов защиты продемонстрировало неоднозначный эффект на структурные изменения паренхимы почек и сосудистого компонента, оказываясь малоэффективным при длительном воздействии перегрузок.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Вартбаронов Р.А. Методологические проблемы влияния пилотажных перегрузок на функциональное состояние и профессиональное здоровье лётчика / Р.А. Вартбаронов, М.Н. Хоменко, Р.А. Бондаренко // Вестн. РАМН. – 1996. – №7. – С.19-25.
2. Дубров А.П. Роль геомагнитного поля и гравитации в формировании фундаментальных свойств биологических систем / А.П. Дубров // Тез. докл. "Новые подходы к оценке реактивности организма, математическое моделирование, функциональная диагностика, клиника, влияние геофизических факторов" - Оренбург, 1989. - электронный доступ: <http://omdp.narod.ru/gip/dubrov1.htm>
3. Модин А.Ю. Влияние гравитации на объёмный кровоток в магистральных артериях шеи здорового человека / А.Ю. Модин // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2002. – Т. 36, №5. – С. 23-25.
4. Патент №46383 А 6 1В 10/00. Способ защиты биологических объектов при гравитационных перегрузках: Патент №46383 А 6 1В 10/00 // Лысенко В.В., Бекетов А.И. / «Промышленная собственность». – №5. – Заявл. №200 1074678 5.07.2001; Опубл.15.05.2002. – 5 с.
5. Пикалок В.С., Мостовой С.О. Пристрій для захисту біологічних об'єктів при гравітаційних перевантаженнях. Патент України №16546 опубл. 15.03.2006 р. в Бюл. № 3
6. Таирбеков М.Г. Исследования в области клеточной биологии в полетах автоматических космических аппаратов (особенности подготовки и проведения экспериментов) / М.Г. Таирбеков // Авиакосмическая и экологическая медицина. - 2006. - Т. 40, № 5. - С. 3-15.
7. Таирбеков М.Г. Эволюция взаимодействия живых систем с окружающей средой / М.Г. Таирбеков // Авиакосмическая и экологическая медицина. –2002. –Т. 36, №4. –С. 3-14.
8. Objective evaluation of changes in left ventricular and atrial volumes during parabolic flight using real-time three-dimensional echocardiography /E.G. Caiani, L. Sugeng, L. Weinert et al. // J. Appl. Physiol. – 2006. – Vol. 101, №2. – P. 460-468.

Надійшла 22.12.2010 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін