

УДК: 576.3/7:591.441:599.323.41:533.6.013.8:616-008.9

© Мороз Г.А., 2012

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ В СЕЛЕЗЕНКЕ КРЫС ЗРЕЛОГО ВОЗРАСТА ПРИ 45-КРАТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ГРАВИТАЦИОННЫХ ПЕРЕГРУЗОК И НА ФОНЕ ФАРМКОРРЕКЦИИ

Мороз Г.А.

ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.П. Георгиевского»

Мороз Г.А. Морфологические преобразования в селезенке крыс зрелого возраста при 45-кратном воздействии гравитационных перегрузок и на фоне фармакоррекции // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 75-77.

Изучены морфологические особенности селезенки 24 крыс-самцов линии Вистар зрелого возраста, которых ежедневно (45 дней) подвергали 10-минутному воздействию гравитационных перегрузок (9 g) без коррекции и на фоне применения глутаргина. Установлено, что многократное воздействие гравитационных перегрузок приводит к выраженным циркуляторным нарушениям, разрастанию соединительнотканного компонента и гипоплазии лимфоидной ткани. Использование глутаргина в качестве корригирующего средства оказалось малоэффективным.

Ключевые слова: морфология селезенки, крыса, гипергравитация, глутаргин.

Мороз Г.О. Морфологічні перетворення в селезінці шурів зрілого віку при 45-кратній дії гравітаційних перевантажень і на фоні фармакорекції // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 75-77.

Вивчені морфологічні особливості селезінки 24 шурів-самців лінії Вистар зрілого віку, яких щодня (45 днів) піддавали 10-хвилинній дії гравітаційних перевантажень (9 g) без корекції та на фоні застосування глутаргину. Встановлено, що багатократна дія гравітаційних перевантажень призводить до виражених циркуляторних порушень, розростання сполучнотканинного компонента і гіпоплазії лімфоїдної тканини. Використання глутаргину як коригувального засобу виявилось малоефективним.

Ключові слова: морфологія селезінки, шур, гіпергравітація, глутаргін.

Moroz G.A. Morphological changes in mature rat spleen under 45-times exposure to hypergravity and pharmacorection // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 75-77.

Morphological peculiarities of 24 mature male Wistar rats spleen under hypergravity (9 g, 10 min, daily, 45 times) were investigated. Glutargin was used as a corrector. It is revealed that multiple gravitational overloads causes marked circulatory disturbances, connective tissue growth and lymphoid hypoplasia. Use of glutargin had little effect.

Key words: spleen morphology, rat, hypergravity, glutargin.

Установление закономерностей адаптации организма к различным внешним воздействиям является одной из важнейших медико-биологических проблем. В современных условиях особый интерес представляют вопросы реактивности организма при действии экстремальных факторов высотного и космического полета, одним из которых являются гравитационные перегрузки [4]. Выраженность защитных реакций организма на внешние воздействия во многом зависит от морфофункционального состояния органов иммуногенеза и, в частности, селезенки, играющей важную роль в обеспечении естественной резистентности [2]. Однако на сегодняшний день в научной литературе практически отсутствуют данные об особенностях реактивности селезенки на систематическое воздействие гравитационных перегрузок в зависимости от возраста, а также возможности фармакологической коррекции возникающих при этом морфофункциональных нарушений.

Цель исследования – изучить морфологические особенности строения селезенки крыс зрелого возраста при 45-кратном гипергравитационном воздействии и на фоне применения глутаргина.

Материал и методы исследования. Изучали структуру селезенки 24 крыс-самцов линии Вистар 12-месячного возраста (с исходной массой тела 260-280 г), распределенных на четыре серии (по 6 крыс в каждой). Серию ГП составили крысы, которые ежедневно (45 дней) подвергались 10-минутному воздействию поперечно-направленных гравитационных перегрузок величиной 9 g. Гипергравитация моделировалась путем вращения животных в контейнерах центрифуги Ц-2/500. В серию Гл вошли животные,

которые испытывали аналогичные перегрузки на фоне внутрибрюшинного введения глутаргина в дозе 100 мг/кг массы тела [3]. Серию К-1 составили животные, не подвергавшиеся гравитационным перегрузкам. В серию К-2 вошли крысы, которые, как и животные серии К-1 не подвергались вращению в центрифуге, но за 30 мин до начала опыта им вводили стерильный физиологический раствор в эквивалентном объеме.

Животных выводили из опыта на следующий день после последнего сеанса гипергравитации путем декаптации под эфирным наркозом. Эксперимент был выполнен с соблюдением биоэтических норм. Забор, фиксацию материала и изготовление парафиновых блоков выполняли согласно общепринятым методикам работы с лимфоидными органами. Готовили серийные поперечные срезы селезенки в области ворот толщиной 4-6 мкм. Для изучения структурных компонентов органа срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по ван Гизону, азур II-эозином, ставили ШИК-реакцию с докраской ядер гематоксилином Карацци. Для изучения ультраструктурных изменений применяли трансмиссионную электронную микроскопию. Готовили полутонкие и ультратонкие срезы, которые после окраски по Рейнольдсу фотографировали на электронном микроскопе ПЭМ-125К Сумского ПО «Электрон». Детали гистологического строения изучали с помощью цитоморфологического комплекса на базе микроскопа Olympus CX31. Относительные площади структурных компонентов селезенки определяли статистическим методом С.Б. Стефанова (1985) с использованием для вычисления доверительного

интервала таблиц Р.Б. Стрелкова (1980). В среде морфометрической программы ImageJ производили вычисления средних площадей зон белой пульпы, а также подсчет в них клеточных популяций на площади 1000 мкм². Количественные показатели обрабатывали с использованием методов вариационной статистики. Показатели серии ГП сравнивали с данными К-1, а серии Гл – с К-2. Достоверными считали данные с погрешностью меньше 5% (p<0,05 в тексте обозначено *).

Результаты собственных исследований. После систематического воздействия гравитационных перегрузок на гистологических препаратах капсула селезенки выглядела утолщенной и имела волнистый ход. Трабекулы отечны и разволокнены, содержали гипертрофированные миоциты и избыточное со-

держание соединительнотканых волокон. Проходящие в трабекулах кровеносные сосуды полнокровны. Пульпарные артерии выглядели спазмированными. Их интима образовывала складки, эластическая мембрана была уплотнена, мышечная оболочка гипертрофирована. Вены и синусы расширены и переполнены кровью. Стенки вен набухшие, давали резко положительную ШИК-реакцию. В просвете некоторых наблюдали рассасывающиеся фибриновые тромбы. Встречали очаги старых кровоизлияний. Отмечали повышенную макрофагальную активность. В красной пульпе выявляли много свободных и компактных групп лимфоцитов.

Относительная площадь белой пульпы в сравнении с контролем уменьшалась на 33,33%* (табл.).

Таблица. Соотношение (%) структур селезенки крыс (M±m)

Серии	Красная пульпа	Белая пульпа	Капсула и трабекулы	ЛУ в БП	ЛПАВ в БП
К-1	66,61±0,12	26,25±0,12	7,14±0,09	44,90±0,12	55,10±0,12
ГП	76,43±0,15*	17,50±0,12*	6,07±0,06*	32,65±0,12*	67,35±0,12*
К-2	66,43±0,19	27,14±0,19	6,43±0,10	39,47±0,19	60,53±0,19
Гл	73,57±0,24*	19,29±0,19*	7,14±0,10*	37,04±0,19*	62,96±0,19*

Примечание. * — p < 0,05 относительно контроля.

При этом в лимфоидной ткани отмечали уменьшение количества и относительной площади (на 27,27%*) лимфоидных узелков (ЛУ). При этом в соотношении структурно-функциональных зон ЛУ отмечали достоверное уменьшение относительных площадей периаартериальной зоны (ПАЗ) (на 14,47%*) и герминативных центров (ГЦ) (на 19,52%*).

В лимфатических периаартериальных влагалитцах (ЛПАВ) на фоне снижения относительного содержания малых и больших лимфоцитов (на 6,80%* и 26,99%*, соответственно) выявляли увеличение процента плазматических клеток (на 29,71%*) и доли клеток с признаками деструкции (на 74,29%*) при том, что макрофагальная активность была ниже, чем в контроле.

В отличие от ЛПАВ, в ЛУ наблюдали увеличение плотности клеточной популяции, прежде всего за счет большого количества уменьшенных в размерах апоптотически измененных клеток, что подтверждалось увеличением их доли. При этом в герминативных центрах лимфоидных узелков, хотя и возрастала доля больших лимфоцитов (на 36,85%*), относительное содержание делящихся клеток сокращалось, в сравнении с контролем, на 54,41%*. Маргинальная зона (МЗ) за счет повышенного содержания эритроцитов и тромбоцитов выглядела расширенной, ее граница с красной пульпой была размыта. Обращало на себя внимание часто встречающиеся в МЗ ШИК-положительные бесструктурные элементы, при этом плотность распределения иммунокомпетентных клеток, хотя и незначительно (на 4,77%*), но достоверно снижалась. Митозы не выявляли. Отмечали увеличение доли плазматических клеток (на 40,03%*), прежде всего за счет зрелых форм, и макрофагов. Встречали отдельные группы плазмоцитов с ультрамикроскопическими признаками различной функциональной активности (рис. 1). Выявляли большое количество клеток как лимфоцитарного ряда, так и микроокружения с выраженными дистрофическими изменениями органелл и клеточ-

ных мембран. Встречали ретикулоэпителиоциты с признаками деструкции в виде сморщивания ядра с гиперконденсацией хроматина, расширения перинуклеарного пространства, появления вторичных лизосом и вакуолизацией цитоплазмы (рис. 2).

После гипергравитационного воздействия на фоне применения глутаргина в капсуле и трабекулах селезенки выявляли повышенное содержание волокнистого компонента и гипертрофированные миоциты. Трабекулярные кровеносные сосуды преимущественно полнокровны. Однако в пульпе многие артерии выглядели запустевшими и суженными. Вены, наоборот, расширенными, с признаками стаза. Стенки большинства сосудов утолщены за счет гипертрофии эндотелиоцитов и уплотнения базальной мембраны, а также гипертрофии мышечной оболочки, давали интенсивную ШИК-реакцию. В пульпе выявляли много мелких очагов старых геморрагий.

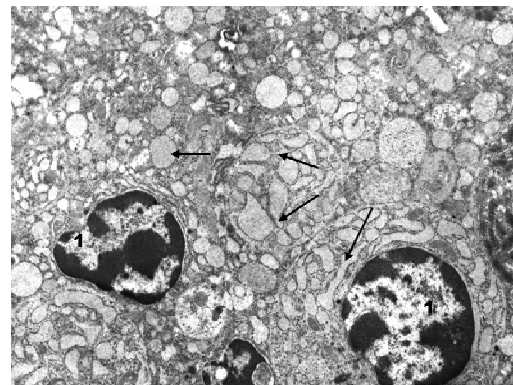


Рис. 1. МЗ селезенки крысы после 45-кратного воздействия перегрузок. Плазматические клетки с расширенными каналами гЭПС. ТЭМ. Ув. 4000х. 1 – ядро плазмоцита, стрелки – каналы гЭПС.

Отклонения в соотношении структурных компонентов селезенки по своему характеру и степени выраженности оказались близкими к изменениям,

обнаруженным в селезенке крыс, подвергавшихся воздействию гравитационных перегрузок без применения фармакоррекции (см. табл.). Граница между красной пульпой и маргинальной зоной лимфоидных образований была сглаженной. В немногочисленных лимфоидных узелках выявляли небольшие ГЦ, их доля в общей площади узелка была меньше контрольных данных на 18,09%*, при этом уменьшалась и относительная площадь ПАЗ (на 10,86%*).

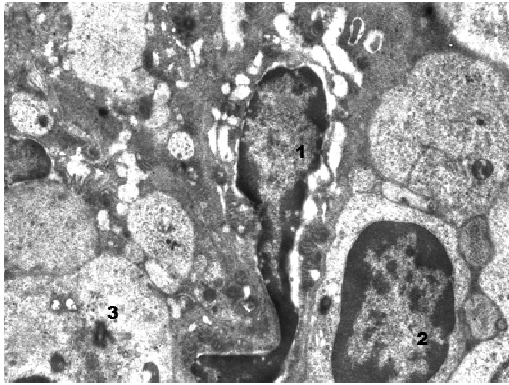


Рис. 2. МЗ селезенки крысы после 45-кратного воздействия перегрузок. Некроз ретикулярной клетки. ТЭМ. Ув. 6000х. 1 – ядро ретикулярной клетки, 2 – ядро лимфоцита, 3 – цитоплазма макрофага.

Плотность распределения клеток в зонах белой пульпы снижалась. В сравнении с контролем, уменьшалось удельное содержание молодых форм лимфоцитов, резко возрастала доля клеток с признаками деструкции, превышая отклонения, выявленные в опытах гипергравитационного воздействия без фармакоррекции. Лишь в некоторых препаратах в ГЦ узелков выявляли единичные делящиеся клетки, в остальных зонах пролиферативную активность не выявляли. На электронограммах наблюдали как апоптотически, так и некротически измененные лимфоциты, а также ретикулоэндотелиоциты с вакуолизированной цитоплазмой, содержащей расширенные канальцы ЭПС, набухшие митохондрии с дискомпаксацией и редукцией крист, очаговой деструкцией мембран. Цитоплазма макрофагов была перегружена фагоцитированным материалом (рис. 3).

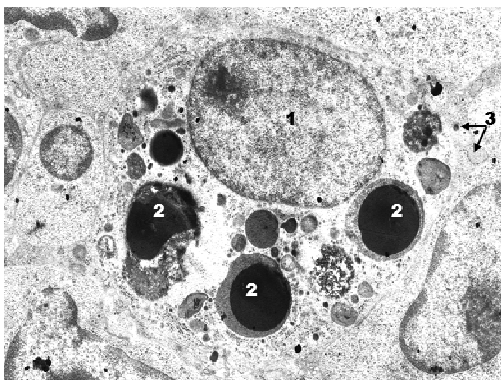


Рис. 3. Белая пульпа селезенки крысы после 45-кратного воздействия перегрузок на фоне применения глутаргина. Активный макрофаг. ТЭМ. Ув. 4800х. 1 – ядро макрофага, 2 – фагоцитированные апоптотические тела, 3 – вторичные лизосомы.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что 45-кратное воздействие грави-

тационных перегрузок приводит к выраженным морфофункциональным нарушениям в селезенке крыс зрелого возраста. Спровоцированное многократными гемодинамическими сдвигами разрастание соединительнотканного компонента на фоне чрезмерного утолщения сосудистых стенок и сужения просвета, прежде всего, артериальных сосудов, вызванное гипертрофией эндотелия и мышечной оболочки, приводит к усугублению гипоксического состояния органа. Нарастающая гипоксия на фоне хронической стресс-реакции способствует прогрессированию гипоплазии лимфоидной ткани и нарушению миграции лимфоцитов. Угнетение пролиферативных процессов, значительное содержание деструктивно измененных клеток во всех структурах лимфоидной ткани свидетельствует о том, что лимфоцитопоэтическая функция органа находится на адаптационном пределе и может привести к развитию вторичного иммунодефицитного состояния.

Использование глутаргина при многократном воздействии гравитационных перегрузок с целью повышения адаптационных возможностей селезенки крыс оказалось малоэффективным. По-видимому, это можно объяснить тем, что избыточное поступление в организм входящего в состав препарата аргинина (донатор оксида азота), способствует неспецифической вазодилатации [1, 5] прежде всего венного русла селезенки, что, на фоне кумуляции циркуляторных расстройств, усугубляет гипоксию органа и приводит к гипоплазии лимфоидной ткани.

В дальнейшем планируются морфологические исследования селезенки крыс разного возраста, подвергавшихся воздействию гравитационных перегрузок с применением физического способа защиты.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бабушкина А.В. L-аргинин с точки зрения доказательной медицины / А.В. Бабушкина // Украинский медицинский журнал. – 2009, Т. XI – XII, № 6(74). – С. 17-19.
2. Григоренко Д.Е. Лимфоидная ткань селезенки крыс в отдаленный период после действия гипергравитации / Д.Е. Григоренко, И.Б. Краснов, М.Р. Сапин // Вестн. нов. медиц. технологий. – 2004. – Т. 11, № 1–2. – С. 21-22.
3. Пат. на корисну модель 35792 Україна, МПК А61В 5/145. Спосіб корекції несприятливої дії гравітаційних перевантажень в експерименті / Пикалюк В.С., Кутя С.А., Мороз Г.О., Коняева О.І.; винахідники і власники В.С. Пикалюк, С.А. Кутя, Г.О. Мороз, О.І. Коняева. – № у 200803985; заявл. 31.03.2008 ; опубл. 10.10.2008, Бюл. № 19, 2008 р.
4. Хоменко М.Н. Оценка переносимости перегрузок +Gz после моделирования 8-часового полета / М.Н. Хоменко, И.В. Бухтияров, Л.С. Малащук // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2005. – Т. 39, № 5. – С. 31-36.
5. L-Arginine and Alzheimer's disease / J. Yi, L.L. Horky, A.L. Friedlich [et al.] // Int. J. Clin. Exp. Pathol. – 2009. – № 3. – P. 211-238.

Надійшла: 11.09.2012 р.
Рецензент: проф. С.А.Кашенко