

УДК: 611.36:531.5:613.693

© Гафарова Э.А., 2012

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ СИСТЕМАТИЧЕСКОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ГИПЕРГРАВИТАЦИИ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ФИЗИЧЕСКОГО И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДОВ ЗАЩИТЫ

Гафарова Э.А.

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

Гафарова Э.А. Морфологические преобразования печени крыс, подвергавшихся систематическому воздействию гипергравитации на фоне применения физического и фармакологического методов защиты // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 25-28.

Изменения микроциркуляторного русла печени и структурных элементов проявляются в наибольшей степени при 30-кратном воздействии гипергравитации, что связано с кумуляцией негативных эффектов в виде нарушений микроциркуляции, тканевой гипоксии, деструктивно-дистрофических изменений клеток, а также – с истощением функциональных резервов органа, что продемонстрировано снижением накопления ШИК-положительных веществ в цитоплазме гепатоцитов и подавлением адаптационных механизмов, реализующихся за счет митоза гепатоцитов и образования двуядерных форм клеток. Относительно менее выраженные гистопатологические изменения отмечали в экспериментальных группах крыс ювенильного и молодого возраста, что, вероятно, обусловлено более выраженными функциональными резервами органа. Применение в качестве препаратов фармакологической коррекции глутаргина и липофлавона оказало ограниченный эффект на развивающиеся морфологические преобразования печени, вызванные систематическим воздействием гипергравитации.

Ключевые слова: гипергравитация, печень, морфология.

Гафарова Е.О. Морфологічні перетворення печінки щурів, що піддавалися систематичному впливу гіпергравітації на фоні застосування фізичного та фармакологічного методів захисту // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 25-28.

Зміни мікроциркуляторного русла печінки та структурних елементів проявляються в найбільшій мірою при 30-кратному впливі гіпергравітації, що пов'язано з кумуляцією негативних ефектів у вигляді порушень мікроциркуляції, тканинної гіпоксії, деструктивно-дистрофічних змін клітин, а також - з виснаженням функціональних резервів органу, що продемонстровано зниженням накопичення ШИК-позитивних речовин у цитоплазмі гепатоцитів та придушенням адаптаційних механізмів, що реалізуються за рахунок митозу гепатоцитів та виявлення двоядерних форм клітин. Відносно менш виражені гистопатологічні зміни відзначали в експериментальних групах щурів ювенильного та молодого віку, що, ймовірно, обумовлено більш вираженими функціональними резервами органу. Застосування в якості препаратів фармакологічної корекції глутаргину та ліпофлавоноу зробило обмежений ефект на розвиваючіся морфологічні перетворення печінки, викликані систематичним впливом гіпергравітації.

Ключові слова: гіпергравітація, печінка, морфологія.

Gafarova E.A. The morphological changes in rats liver exposed to systemic hypergravity sessions and with application of physical and pharmaceutical protection // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 25-28.

Changes in the microvasculature of the liver as well as in the hepatocytes are extremely high in the 30-session impact of hypergravity, that, on the one hand, is the result of the cumulation of negative effects like microcirculatory disorders, tissue hypoxia, destructive-dystrophic changes in cells; on the other hand follows the depletion of body functional reserves, that is demonstrated by reduced accumulation of PAS-positive substances in the cytoplasm of hepatocytes and the suppression of adaptive mechanisms that are realized by the formation of mitotic hepatocytes and binucleated cells formation. From this point of view, the relatively less severe histopathological changes were observed in the experimental groups of rats of juvenile and young age, which was probably due to better functional reserves of the organ.

The application of Glutargin and Lipoflavin, as the ways of pharmaceutical correction had a limited effect on the developing morphological transformation of the liver caused by systemic exposure to hypergravity.

Key words: hypergravity, liver, morphology.

Введение. В многочисленных экспериментально-клинических исследованиях было установлено, что перегрузки оказывают на организм выраженное действие, опосредованное, в первую очередь, изменениями системной гемодинамики с соответствующими изменениями функционального состояния сердечно-сосудистой и центральной нервной системы. Тем не менее, большинство данных работ было посвящено изучению влияния малых и умеренных по величине перегрузок (2 – 4 G).

С другой стороны, был проведен ряд экспериментальных исследований на лабораторных животных с использованием надпороговых значений перегрузок (9 G), которые были посвящены изучению морфологических преобразований различных органов и систем (опорно-двигательного аппарата, легких, тимуса, селезенки, надпочечников, почек) [1 – 3]. По данным этим исследований, выраженность гистопатологических изменений в

различных органах при воздействии значительной по величине гипергравитации возрастала с увеличением кратности систематического экзогенного воздействия, а также зависела от онтогенетического периода экспериментальных животных (крыс). Тем не менее, вопрос о преобразованиях печени, их типах и обратимости, возникающих под воздействием поперечно-направленных перегрузок, на протяжении многих лет не находил должного отражения в космической и авиационной медицине. Данное экспериментальное исследование посвящено влиянию гравитационных перегрузок на структурные изменения печени.

Учитывая вышесказанное, была поставлена **цель** – комплексно оценить морфологические изменения печени крыс в возрастном аспекте в условиях систематического воздействия на организм поперечно-направленных гравитационных перегрузок.

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

1) Описать структурные преобразования печени крыс ювенильного, молодого и зрелого возраста при систематическом, 10- и 30-кратном, воздействии поперечно-направленных перегрузок.

2) Изучить в онтогенетическом аспекте морфологические преобразования печени крыс в условиях воздействия поперечно-направленных перегрузок на фоне применения физического метода защиты.

3) Исследовать в онтогенетическом аспекте морфологические преобразования печени крыс в условиях воздействия поперечно-направленных перегрузок на фоне применения фармакологического метода коррекции препаратами глутаргин и липофлавон.

4) Определить закономерности изменений стромально-сосудистого и паренхиматозного компонентов печени экспериментальных крыс на различных уровнях структурной организации в зависимости от возраста животных и кратности гипергравитационного воздействия.

5) Установить возможные механизмы развития морфологических преобразований печени крыс в условиях воздействия значительной по величине гипергравитации

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.

Все крысы, подвергавшиеся систематическому воздействию гипергравитации в исследовании, были разделены на 4 экспериментальных серии: 1-я экспериментальная серия (Э1) – крысы, подвергавшиеся систематическому воздействию гипергравитации без применения какого-либо способа защиты; 2-я экспериментальная серия (Э2) – крысы, подвергавшиеся систематическому воздействию гипергравитации на фоне применения физического способа защиты; 3-я экспериментальная серия (Э3) – крысы, подвергавшиеся систематическому воздействию гипергравитации на фоне применения препарата глутаргин; 4-я экспериментальная серия (Э4) – крысы, подвергавшиеся систематическому воздействию гипергравитации на фоне применения препарата липофлавон. Все контрольные и экспериментальные серии крыс были аналогичным образом разделены на возрастные группы (группы крыс ювенильного, молодого и зрелого возраста (I, II и III, соответственно)), которые, в свою очередь, были разделены на подгруппы в зависимости от продолжительности эксперимента (10-дневный эксперимент – подгруппа А и 30-дневный эксперимент – подгруппа В). Поперечно-направленные (в направлении "грудь-спина") перегрузки моделировались с использованием экспериментальной центрифуги (Ц-2/500 с радиусом 0,5 м и рабочим диапазоном от 1 до 50 g. Величина перегрузки составляла 9 g с градиентом нарастания 1,4 – 1,6 ед/с и градиентом спада 0,6 – 0,8 ед/с. Эксперимент проводился ежедневно (на протяжении 10 или 30 дней, в зависимости от подгруппы А или В, соответственно), в одно и то же

время суток, 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 препаратами глутаргин и липофлавон (экспериментальные серии Э2, Э3 и Э4, соответственно) [4 – 6]. Полученный экспериментальный материал подвергали комплексному морфологическому исследованию, которое включало в себя гистологические методы исследования (окраска гематоксилином и эозином, по ван Гизон, ШИК-реакция), гисто- и цитоморфометрию, а также электронномикроскопический метод. Полученные данные оценивались статистически.

Результаты и их обсуждение. Оценивая полученные результаты гистологического анализа препаратов печени крыс, подвергавшихся воздействию гипергравитации без применения какой-либо защиты или с применением физического / фармакологического метода защиты, следует отметить, что поперечно-направленные перегрузки величиной 9 G оказывали значительное влияние на гистоархитектонику печени. Наиболее выраженные гистопатологические изменения были выявлены в подгруппах крыс зрелого возраста, а также при более длительном периоде систематического воздействия перегрузок (30 сеансов).

Типичными находками при проведении гистологического исследования были гидропическая и жировая паренхиматозная дистрофия гепатоцитов, дисконфлюэнтная печеночных балок с неравномерным сужением просвета синусоидных капилляров. Практически всегда имел место отек интерстициального пространства с расширением пространства Диссе и нарушением межклеточных контактов между гепатоцитами. На фоне данных изменений, как правило, увеличилось количество клеток Купфера с повышением их функциональной активности. Со стороны сосудистого русла, как правило, выявляла расширение и полнокровие центральной вены печеночной дольки и лимфоцитарную инфильтрацию в перипортальной области. В редких случаях обнаруживали явления диапедезных кровоизлияний. Явлений холестаза ни в одной из экспериментальных групп выявлено не было.

При оценке данных гистопатологических изменений печени принципиальным вопросом является их обратимость. В подгруппах крыс ювенильного и, особенно, молодого возраста при 10-кратном воздействии гипергравитации изменения носили умеренный характер и были обратимыми. Вместе с тем, в подгруппах крыс зрелого возраста, либо в подгруппах крыс, подвергавшихся 30-кратному воздействию гипергравитации, преобразования гистологической структуры органа носили значительно более выраженный характер, сопровождающийся нарушением структурной целостности гепатоцитов.

Применение физического метода защиты, в целом, не оказало протекторного влияния на морфологические преобразования органа. Как и в подгруппах крыс, подвергавшихся воздействию гипергравитации без применения защиты, струк-

турные преобразования печени носили выраженный, зачастую необратимый характер.

Структурные преобразования печени крыс ювенильного возраста, подвергавшихся 10-кратному воздействию на фоне применения физического метода защиты (Э2-IA), носили, преимущественно, реактивный характер, проявляясь изменениями со стороны сосудистого компонента. Данные реактивные изменения стихали при увеличении срока эксперимента до 30 суток (Э2-IV). Вместе с тем, в обеих экспериментальных подгруппах крыс ювенильного возраста гистопатологические изменения затрагивали и паренхиматозный компонент печени, что проявлялось в дезорганизации печеночных балок и дистрофическими изменениями гепатоцитов. В подгруппах крыс зрелого возраста (Э2-IIIА и Э2-IIIВ) выраженность гистопатологических изменений нарастала с увеличением кратности экзогенного воздействия, приводя к необратимым клеточным деструктивно-дистрофическим изменениям, которые были обнаружены при описании гистологических препаратов и косвенно подтверждены цитоморфометрическим анализом.

Применение препаратов Глутаргин и Липофлакон в подгруппах крыс, подвергавшихся 10-кратному воздействию гипергравитации (подгруппы Э3-А и Э4-А), оказало положительный эффект на гистологическую структуру печени. Данный эффект был более выражен при применении Глутаргина. Вместе с тем, при увеличении кратности воздействия перегрузок до 30 сеансов положительный эффект от применения препаратов нивелировался, что проявлялось в появлении выраженных гистопатологических изменений со стороны гепатоцитов и микроциркуляторного русла печеночной дольки.

Обобщая результаты, полученные при проведении полуколичественного анализа накопления ШИК-положительных веществ в цитоплазме гепатоцитов печени крыс экспериментальных серий, можно сделать вывод об общей тенденции к истощению функциональных резервов печени.

Полученные результаты описательного гистологического анализа, в рамках проведения комплексного морфологического исследования преобразований печени, подтверждались данными цитоморфометрического и цитоморфометрического анализов. Так, при увеличении кратности систематического воздействия гипергравитации до 30 сеансов, в целом, в большинстве экспериментальных серий наблюдали статистически достоверное снижение показателей площади гепатоцитов. Напротив, в отличие от общей тенденции изменения показателей площади гепатоцитов в меньшую сторону по сравнению с контролем, анализ показателей средней площади ядер гепатоцитов выявил разнонаправленные изменения в различных экспериментальных сериях и подгруппах животных.

Так, при систематическом воздействии гипергравитации на протяжении 10 дней данный показатель статистически достоверно снижался в подгруппах Э1-IA, Э1-IIIА и Э2-IIIА (на 16,99%, 25,11% и 18,94%, соответственно). Напротив, в подгруппах Э2-IIIА и Э4-А показатель средней площади ядер гепатоцитов статистически достоверно увеличивался

по сравнению с контрольными значениями (на 16,09% и 40,33%, соответственно).

Полученные данные в отношении показателей средней площади гепатоцитов и средней площади их ядер, в целом, подтверждались профилями распределения популяции гепатоцитов, в зависимости от площади клетки и площади ядер.

Параллельно с гистопатологическими изменениями в печени, вызванными прямым повреждающим действием гипергравитации и опосредованными нарушениями микроциркуляции, развивается спектр реакций, которые носят адаптационно-компенсаторный характер. Для оценки цитоморфометрических параметров данных механизмов в данной работе оценивали количество двуядерных форм гепатоцитов и количество клеток, находящихся на различных стадиях митотического деления. Полиплоидия, являясь одной из форм физиологичной регенерации печени, представляет собой своеобразную защитную реакцию [7, 8]. Увеличение количества полиплоидных клеток (двуядерных гепатоцитов) можно рассматривать в качестве механизма биологической адаптации, направленной на увеличение функциональности, как при снижении числа клеток в общей популяции гепатоцитов, так и при снижении синтетических процессов в клетках, подверженных дистрофическим изменениям. С этой позиции, увеличение количества двуядерных форм гепатоцитов следует рассматривать, как "альтернативу" митотическому делению клеток в условиях ограниченного доступа к функциональным резервам клетки.

В экспериментальной серии крыс, подвергавшихся 10- и 30-кратному воздействию гипергравитации без применения защиты, в отношении показателей количества двуядерных гепатоцитов и клеток, находящихся на различных стадиях митотического деления, были получены различные данные, которые зависели от возрастной группы экспериментальных животных. В подгруппах Э1-IA и Э1-IV значения митотического индекса в обеих подгруппах экспериментальных крыс ювенильного возраста имели тенденцию к увеличению, хотя и не достигали уровня статистической значимости, при этом количество двуядерных гепатоцитов статистически достоверно возросло на 55,02% и 173,68%, соответственно. В подгруппах крыс молодого возраста (Э1-IIIА и Э1-IIIВ), напротив, наблюдали статистически достоверное увеличение значения митотического индекса (на 22,79% и 33,69%, соответственно). Наконец, в подгруппах крыс зрелого возраста статистически достоверные увеличения количества двуядерных гепатоцитов и клеток, находящихся на различных стадиях митотического деления, отсутствовали, что расценивали, как неспособность адаптационных систем отвечать адекватной регенерацией на действие повреждающего фактора.

В экспериментальной серии крыс, подвергавшихся воздействию гипергравитации на фоне применения физического метода защиты, также как и в экспериментальной серии без применения защиты, наиболее выраженные проявления адаптационно-компенсаторных реакций в виде увеличения количества двуядерных форм гепатоцитов и повышения значения митотического индекса наблюдали в подгруппах крыс ювенильного и молодого возраста. В

данных возрастных группах экспериментальных крыс общая тенденция характеризовалась увеличением количества клеток, находящихся на различных стадиях митотического деления, в подгруппе с 10-кратным воздействием, и увеличением количества двуядерных форм гепатоцитов – в подгруппе с 30-кратным воздействием гипергравитации.

В экспериментальных подгруппах крыс зрелого возраста (Э2-IIIА и Э2-IIIВ) отмечали тенденцию к снижению показателя митотического индекса по отношению к контролю, хотя данные отклонения от контроля не достигали уровня статистической значимости.

Наконец, в экспериментальных сериях крыс, подвергавшихся воздействию гипергравитации на фоне применения препаратов Глутаргин и Липофлавон, данные показатели зависели, в первую очередь, от продолжительности действия экзогенного фактора. Это подтверждается данными описательного гистологического анализа, свидетельствующего о нарастании выраженности гистопатологических изменений в печени крыс данных экспериментальных серий и нивелировании положительного эффекта применения препаратов при увеличении кратности систематического воздействия гипергравитации до 30 сеансов.

Липофлавон оказывал значительно менее выраженное стимулирующее воздействие на адаптационные резервы печени экспериментальных крыс: ни в подгруппе Э4-А, ни в подгруппе Э4-В не наблюдали статистически достоверного увеличения количества клеток, находящихся на различных стадиях митотического деления. Лишь в подгруппе с 10-кратным воздействием гипергравитации отмечали статистически достоверное увеличение количества двуядерных форм клеток на 25,07% по сравнению с контролем.

Наконец, на ультрамикроскопическом уровне в печени крыс различных экспериментальных серий имеют место различные по степени выраженности и направленности изменения, среди которых, в качестве основных, можно выделить явления внутриклеточного и интерстициального отека, проявляющегося в расширении межклеточных контактов и перисинусоидального пространства, изменения дистрифического и деструктивного характера, а также изменения, носящие компенсаторно-приспособительный характер. Наиболее выраженные ультрамикроскопические изменения, которые, зачастую, носили необратимый характер, были выявлены в подгруппах крыс зрелого возраста вне зависимости от кратности воздействия гипергравитации и применения физического метода защиты. Аналогично этому, в подгруппах крыс ювенильного и молодого возраста при увеличении кратности воздействия перегрузок, нарастала и выраженность ультраструктурных преобразований.

Заключение. Обобщая полученные в исследовании данные анализа структурных преобразований печени на органном, тканевом, клеточном и субклеточном уровнях организации, следует отметить, что экспериментальное моделирование воздействия фактора гипергравитации приводит к значительным по своей выраженности морфологическим преобразованиям печени экспериментальных животных. Это, вероятно, обусловлено, отсутствием в организме

сформированных механизмов, способных противостоять условиям измененной гравитации, а также надпороговой интенсивностью действующего экзогенного фактора (9 G).

Изменения микроциркуляторного русла печени и гепатоцитов проявляются в наибольшей степени при 30-кратном воздействии гипергравитации, что связано с кумуляцией негативных эффектов в виде нарушений микроциркуляции, тканевой гипоксии, деструктивно-дистрофических изменений клеток, а также – с истощением функциональных резервов органа, что продемонстрировано снижением накопления ШИК-положительных веществ в цитоплазме гепатоцитов и подавлением адаптационных механизмов, реализующихся за счет митоза гепатоцитов и образования двуядерных форм клеток. Относительно менее выраженные гистопатологические изменения отмечали в экспериментальных группах крыс ювенильного и молодого возраста, что, вероятно, обусловлено более выраженными функциональными резервами органа. Применение в качестве препаратов фармакологической коррекции глутаргина и липофлавона оказало ограниченный эффект на развивающиеся морфологические преобразования печени, вызванные систематическим воздействием гипергравитации.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Волковец Д.В. Структурные изменения почек крыс различных возрастных групп при воздействии гравитационных перегрузок / Д.В. Волковец, М.А. Кривенцов // Український морфологічний альманах. – 2011. – Т.9, № 2. – С. 20-24.
2. Кутя С.А. Влияние поперечных гравитационных перегрузок на органные характеристики костей крыс разного возраста / С.А. Кутя // Укр. морф. альм. – 2010. – Т. 8, № 2. – С. 115 – 117.
3. Мороз Г.А. Структурно-функциональные особенности тимуса крыс разного возраста при систематическом воздействии гипергравитации / Г.А. Мороз // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 142–147.
4. Пат. 16546 Україна, МПК А 61В10/00. Пристрій для захисту біологічних об'єктів при гравітаційних перевантаженнях / Мостовий С.О., Пикалюк В.С. – № 200509257; заявл. 3.10.2005; опубл. 15.03.2006. Бюл. № 3.
5. Пат. 35792 Україна, МПК А 61В 5/145. Спосіб корекції несприятливої дії гравітаційних перевантажень в експерименті / Пикалюк В.С., Кутя С.А., Мороз Г.О., Коняєва О.І. – № 200803985; заявл. 31.03.2008; опубл. 10.10.2008. Бюл. № 19.
6. Пат. 37164 Україна, МПК А 61В 5/145. Спосіб корекції несприятливої дії гравітаційних перевантажень препаратом «Ліпофлавон» в експерименті / Пикалюк В.С., Мороз Г.О., Кутя С.А., Коняєва О.І. – № 200804002; заявл. 31.03.2008; опубл. 25.11.2008. Бюл. № 22.
7. Бродский В.Я., Урываева И.В. Клеточная полиплоидия, пролиферация и дифференциация. – М.: Наука, 1981. – 215 с.
8. Сидорова В.Ф., Рябинина З.А., Лейкина Е.М. Регенерация печени у млекопитающих. – Л.: Медицина, 1966. – 204 с.

Надійшла 12.09.2012 р.
Рецензент: проф. С.М.Федченко