

Т.С. Шимкус

МОРФОГЕНЕЗ ЛЁГКИХ КРЫС ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СИСТЕМАТИЧЕСКИХ ПОПЕРЕЧНО-НАПРАВЛЕННЫХ ГРАВИТАЦИОННЫХ ПЕРЕГРУЗОК НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ФИЗИЧЕСКОГО МЕТОДА ЗАЩИТЫ

Государственное учреждение "Крымский государственный медицинский университет имени С.П. Георгиевского"

Шимкус Т.С. Морфогенез лёгких крыс под воздействием систематических поперечно-направленных гравитационных перегрузок на фоне применения физического метода защиты // Украинский морфологический альманах. – 2013. – Том 11, № 4. – С. 88-91.

Проведен комплексный макро и микроанализ легких крыс трех возрастных групп при воздействии гипергравитации и в условиях иммерсионного метода физической защиты. При экспериментальном моделировании гравитационных перегрузок в легких крыс всех возрастных групп наблюдали однотипные изменения, которые сопровождались резким нарушением микроциркуляции и развитием как дистрофически-деструктивных так и компенсаторно-приспособительных процессов в аэрогематическом барьере, степень которых зависела от возраста животных а так же от длительности эксперимента. При применении метода физической защиты наиболее значимые изменения легочной ткани были выявлены на протяжении всего эксперимента в легких половозрелых животных, а так же у неполовозрелых крыс после 30 суток и животных периода старческих изменений после 10 дней эксперимента.

Ключевые слова: морфология, лёгкие, крысы, гипергравитация.

Шимкус Т.С. Морфогенез легень щурів під впливом систематичних поперечно-направлених гравітаційних перевантажень на тлі застосування фізичного методу захисту // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 4. – С. 88-91.

Проведено комплексний макро та мікроскопічний аналіз легень щурів трьох вікових груп при дії гіпергравітації та в умовах імерсійного способу фізичного захисту. При експериментальному моделюванні гравітаційних перевантажень у легенях тварин усіх вікових груп спостерігали однотипні за своєю спрямованістю і вираженістю зміни, що супроводжувалися різким порушенням мікроциркуляції і розвитком в аерогематичному бар'єрі як дистрофічно-деструктивних, так і компенсаторно-приспосовних процесів, ступінь прояву яких залежить від віку тварини і тривалості експерименту. При використанні методу фізичного захисту найбільш значні зміни в легеневій тканині були виявлені впродовж всього експерименту в легенях тварин репродуктивного віку, а також в легких статевозрілих щурів після 30 діб і тварин періоду старечих змін після 10 днів експерименту.

Ключові слова: морфологія, легені, щури, гіпергравітація.

Shimkus T.S. Morphogenesis of rats lungs after systematic influence of transverse-directed gravitational overloads and after application of a method of physical protection // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 4. – С. 88-91.

Morphometric research of lungs was provided on Wistar rats of 3 age groups after exposure of transverse-directed gravitational overload and after exposure of gravitational overload with using of the method of physical protection. The morphological research has revealed more or less definite changes in all foregoing experimental groups. The presence of atelectasis, distelectasis, emphysematous areas and hemorrhages infiltrated by leucocytes and phagocytes were determined. On a background of application of physical protection in all age groups the expressed positive degree was observed but it depended from age of experimental animals and terms of provided experiment. Using of immersial method of physical protection caused most positive changes in lungs of matured rats in all terms of experiment, in immatured rats after 30 days and in senile rats after 10 days of experiment.

Key words: morphology, lungs, rats, hypergravity.

Введение. Современное развитие науки и техники выдвигает проблему изучения адаптации организма к различным факторам внешней среды. Особый интерес представляет изучение длительного влияния факторов высотного и космического полетов на организм животных и человека (ускорения, вибрация, невесомость и т. д.) и разработка мероприятий, повышающих его устойчивость к действию экстремальных условий. Важное место среди космических факторов занимают гравитационные перегрузки. Они возникают на различных участках полета и могут представить угрозу для жизни и деятельности космонавта [7, 8]. С другой стороны, несомненно, что переносимость перегрузок в значительной мере свя-

зана с состоянием органов дыхания, в частности, лёгких.

В многочисленных экспериментальных исследованиях, проведенных, в том числе, и на кафедре нормальной анатомии КГМУ [2, 3, 4, 9], продемонстрировано, что значительные по величине перегрузки вызывают целый спектр патологических реакций в различных органах, приводя к стойким структурным изменениям, сопровождающимся функциональными нарушениями. Вместе с тем, представляют особый интерес изучение структурных преобразований в лёгких после воздействия гипергравитации на фоне применения физического метода защиты, основанного на иммерсионном принципе.

Цель исследования. Целью данной рабо-

ты является выявление морфологических преобразований в лёгких на различных уровнях структурной организации после систематического воздействия гравитационных перегрузок на фоне применения физического метода защиты.

Материал и методы исследования. Эксперимент был проведен на 108 белых крысах линии Вистар, распределенных на 3 возрастных группы: I группа – неполовозрелые животные с начальной массой 110-120 г; II группа – половозрелые животные с начальной массой 220-240 г; III группа – крысы старческого возраста с исходной массой тела 300-330 г. Все возрастные группы включали в себя 2 серии, по 12 животных в каждой. Первую серию (контрольную) составили животные, которые не подвергались воздействию гравитационных перегрузок. Вторая серия включала в себя животных, которые подвергались систематическому воздействию гравитационных перегрузок на фоне применения физического метода защиты. Перегрузки моделировали 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 – 1,4-1,6 ед/с, градиент спада – 0,6-0,8 ед/с. Воздействие гипергравитации моделировали ежедневно, в одно и то же время, в течение 10 минут. Принцип предлагаемой физической защиты основан на помещении объекта, подвергающегося воздействию ускорения, в иммерсионную среду. Для этого крыс второй экспериментальной серии помещали в герметичный пластиковый контейнер, обеспеченный системой вентиляции, который в свою очередь помещался в металлический цилиндр, заполненный водой.

В зависимости от срока эксперимента животные каждой серии были разделены на 2 подгруппы. В подгруппу А вошли крысы, которые подвергались систематическому воздействию гравитационных перегрузок на протяжении 10 дней, а подгруппу Б – на протяжении 30 дней.

Содержание и кормление животных осуществлялось в соответствии с научно-практическими рекомендациями по содержанию лабораторных животных. Экспериментальное исследование было проведено в соответствии с принципами международного права [6].

После декапитации крыс и вскрытия грудной клетки производили выделение лёгких. После выделения лёгкие взвешивали, на основании полученных значений рассчитывали значение относительной массы. В последующем материал фиксировали в 10% нейтральном формалине. Проводка и заливка материала в парафиновые блоки осуществлялась по общепринятым методикам [5]. Изготавливали серийные срезы толщиной 4-6 мкм с последующей окраской гематоксилином и эозином и по ван Гизон. Гистоморфометрическое ис-

следование проводили с помощью цитоморфологического комплекса "Olympus" - CX31 и цифровой видеокамеры "Olympus" – C5050. С использованием программного обеспечения Image-Pro Plus Version 4.5 определяли удельную площадь легочной ткани с неизменной архитектоникой, площадь эмфизематозно измененных участков, ателектазов, дистелектазов и кровоизлияний. Так же проводили определение диаметра прекапиллярных артериол, гемокапилляров и посткапиллярных венул.

Материал для трансмиссионной электронной микроскопии забирали из участков лёгких свободных от крупных сосудов и бронхов. Заливку в смолы проводили по стандартной методике. После изготовления полутонких срезов, готовили ультратонкие срезы (30 - 60 нм), которые после контрастирования фотографировали на электронном микроскопе ПЭМ-100.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием лицензионного программного обеспечения Microsoft Office Excel и Statistica 10.0. Полученные количественные данные подвергали предварительному анализу на нормальность распределения. Оценку статистической достоверности отклонений осуществляли с использованием параметрического метода сравнения двух независимых выборок – критерия Стьюдента. Различия считали статистически достоверными при значении P (вероятность ошибки) $< 0,05$ [1].

Результаты и их обсуждение. Применяемая физическая защита оказывала значительный корректирующий эффект на животных всех возрастных групп, однако его выраженность была различна и зависела от возраста экспериментальных животных, а так же от длительности эксперимента.

Так, при проведении макроскопических исследований было выявлено, что в сравнении с десятидневным воздействием перегрузок, наибольшее снижение относительной массы легких по отношению к массе легких крыс после воздействия перегрузок было выявлено в группе половозрелых крыс и составило 9,37% ($p < 0,05$). После 30 дней воздействия – в группе неполовозрелых животных (12,03% ($p < 0,05$)) (рис. 1).

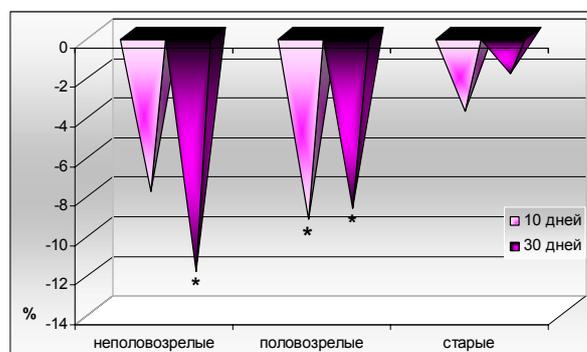


Рис. 1. Сравнительная динамика изменения относительной массы легких после воздействия гравитационных перегрузок при использовании физической защиты. * - ($p < 0,05$)

После 10 дней эксперимента наиболее выраженный корригирующий эффект метода был выявлен в группе половозрелых крыс. Это выражалось в статистически достоверном снижении на 24,32% ($p < 0,05$) и 36,23% ($p < 0,05$) удельного объема кровоизлияний и ателектаза на фоне увеличения на 24,24% ($p < 0,05$) содержания легочной ткани с неизменной архитектурой в сравнении с действием перегрузок (рис. 2). При этом диаметр капилляров и венул снижался на 31,66% ($p < 0,05$) и 23,21% ($p < 0,05$) соответственно. По данным проведенного дисперсионного анализа сила воздействия физической защиты колебалась в пределах 1,5% - 82,8%. Явления отека на ультраструктурном уровне проявлялись слегка набухшими митохондриями с укороченными кристами и расширенными канальцами эндоплазматической сети в очагово-просветленной цитоплазме.

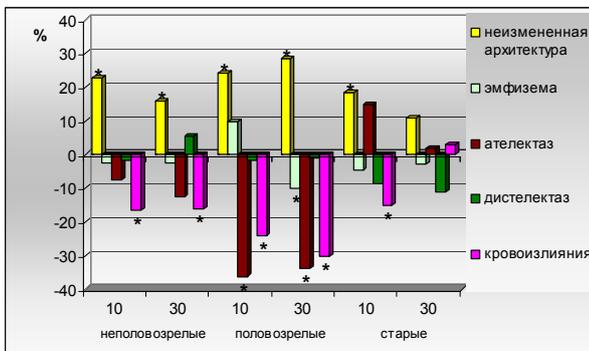


Рис. 2. Сравнительная динамика изменений исследуемых параметров после воздействия гравитационных перегрузок при применении физической защиты. * – ($p < 0,05$)

В группе неполовозрелых животных и старых крыс статистически достоверным было лишь увеличение удельного объема неизменной паренхимы, которое составило 22,86% ($p < 0,05$) и 18,23% ($p < 0,05$) соответственно, а так же снижение удельного объема кровоизлияний на 16,66% ($p < 0,05$) и 15,25% ($p < 0,05$). Так же произошло уменьшение внутреннего диаметра гемокapилляров на 48,94% ($p < 0,05$) и 42,15% ($p < 0,05$), а венул на 18% ($p < 0,05$) и 9,55% ($p < 0,05$) соответственно. При изучении генеральной совокупности сила влияния фактора составляла 51,3% - 69,9% и 38,1% - 80,6%.

При изучении строения аэрогематического барьера в данных возрастных группах явления отека, дистрофические и деструктивные процессы были менее выражены в сравнении с аналогичными изменениями, возникающими под воздействием гравитационных перегрузок, и наблюдали некоторые проявления компенсаторных реакций, которые проявлялись, в частности, увеличением количества ОПТ в цитоплазме некоторых альвеолоцитов II типа, отсутствием их деструкции и наличием актив-

но функционирующих альвеолярных макрофагов (Рис.3)

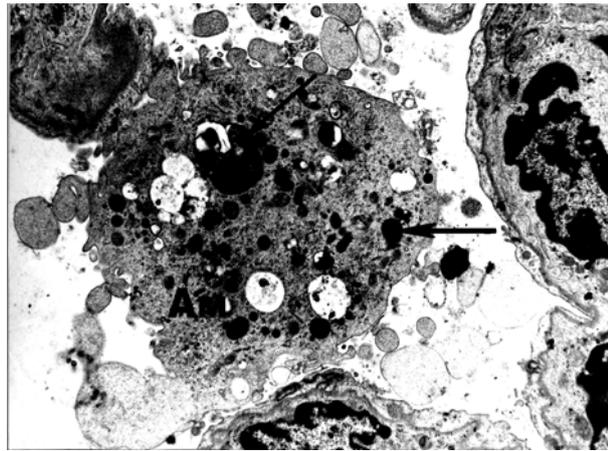


Рис. 3. Активно фагоцитирующий альвеолярный макрофаг с хорошо выраженными фагосомами (стрелка). ТЭМ. Ув. 4000.

После 30 дней эксперимента наиболее выраженный корригирующий эффект метода физической защиты так же был выявлен в легких половозрелых крыс. Так, произошло увеличение содержания легочной паренхимы с неизменной архитектурой на 28,55% ($p < 0,05$) в сравнении с нагрузкой, и снижение удельного объема эмфизематозных участков, ателектаза и кровоизлияний на 10,21% ($p < 0,05$), 33,78% ($p < 0,05$) и 30,43% ($p < 0,05$) соответственно. При этом диаметр капилляров снизился на 35,19% ($p < 0,05$), а венул на 15,09% ($p < 0,05$). По данным электронной микроскопии на фоне преобладания активно функционирующих альвеолярных макрофагов встречались и юные незрелые формы, что косвенно свидетельствует об усилении компенсаторно-приспособительных реакций в легких.

В группе неполовозрелых крыс удельный объем неизменной паренхимы увеличился на 15,83% ($p < 0,05$), содержание кровоизлияний уменьшилось на 16,21% ($p < 0,05$), а диаметр капилляров и венул снизился на 44,04% ($p < 0,05$) и 14,41% ($p < 0,05$).

При ультраструктурном исследовании легких животных данной возрастной группы был выявлен незначительный интрацеллюлярный отек, который проявлялся очаговыми просветлениями цитоплазмы со снижением ее электронно-оптической плотности, обеднением рибосомами гранулярного отдела цитоплазматической сети, набуханием митохондрий, сопровождавшееся редукцией и дисконплексацией их крист, а также уменьшение содержания хроматина в ядрах с его перераспределением по периферии кардиолазмы и просветлением центральной части ядер.

В группе крыс старческого возраста статистически достоверным было лишь увеличение диаметра капилляров и венул, которое составило 38,47% ($p < 0,05$) и 17,91% ($p < 0,05$) соот-

ветственно. Сила влияния фактора на данные параметры составила 87,8% и 61,4%. При изучении строения АГБ в данной возрастной группе явления отека, дистрофические и деструктивные процессы были менее выражены в сравнении с воздействием гравитационных перегрузок. При этом наблюдались некоторые проявления компенсаторных реакций, которые проявлялись, в частности, увеличением количества ОПТ в цитоплазме некоторых альвеолоцитов II типа, отсутствием их деструкции и наличием альвеолярных макрофагов.

Заключение. Эффективность метода физической защиты определялась возрастом экспериментальных животных и продолжительностью эксперимента. Наиболее выраженные компенсаторные изменения в легочной ткани на протяжении всего эксперимента были выявлены в легких половозрелых крыс, у неполовозрелых животных – на 30 сутки, а у старых крыс – на 10 сутки эксперимента.

хологические проблемы деятельности лётчика в высокоманевренном полёте // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2001. – Т. 35, №2. – С. 22-26.

9. Moroz G.A. Structural changes in mature rat thymus under the systematic exposure to +Gx acceleration and Glutarginum / G.A. Moroz, M.A. Kriventsov // Exp Integr Med. – 2013. – Vol. 3(2). – P. 87–92.

Надійшла 27.09.2013 р.

Рецензент: проф. В.І. Лузін

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Васильев А. Н. Научные вычисления в Microsoft Excel / А. Н. Васильев. – М.: Издательский дом "Вильямс", 2004. – 512 с.
2. Возрастные особенности механикопластических свойств позвонков при систематическом гипергравитационном воздействии в эксперименте / В.С. Пикалюк, С.А. Кутя, Г.А. Мороз [и др.] // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2012. – Т.11, № 4. – С.18 – 22.
3. Волковец Д.В. Ультрамикроскопические изменения паренхимы почки под воздействием гипергравитации / Д.В. Волковец, М.А. Кривенцов, Г.В. Нечипоренко // Вісник проблем біології і медицини. - 2011. - Вип. 2, Т. 2. – С. 42-46.
4. Гафарова Э.А. Возрастные гисто- и цитоморфологические преобразования печени крыс, подвергшихся систематическому воздействию гипергравитации / Э.А. Гафарова, В.С. Пикалюк, М.А. Кривенцов // Журнал клінічних та експериментальних наукових досліджень. - 2013. – № 1. – С. 28 – 34.
5. Меркулов Г. А. Курс патогистологической техники / Г. А. Меркулов. – Л.: Медицина, 1969. – 423 с.
6. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Ю.М.Кожемякін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко та ін.]. — К.: Авіцена, 2002. — 156 с.
7. Переносимость перегрузок женщинами-космонавтами на участке спуска в космических полетах длительностью от 8 до 169 суток / М.И. Колотева, А.Р. Котовская, И.Ф. Виль-Вильямс и др. // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2001. – Т. 35, № 6. – С. 24-30.
8. Пономаренко В.А. Лекции: медико-пси-