

2001. – С. 159.

3. Бессалова С.Ю. Морфологічні зміни органів нейроендокринної системи самок свавців при парентеральному введенні ксеногенної спинномозкової рідини / С.Ю. Бессалова // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «медицина». – 2008. – Вип. 33. – С. 10-13.
4. Каширина Н.К. Методика выделения и идентификации органов эндокринной секреции у мышей/Н.К. Каширина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1987. – Т. 3, № 5. – С. 630-631.
5. Фомина К.А. Органометрические показатели гипофиза после двухмесячного воздействия спиртовой настойки эхинацеи/ К.А. Фомина // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 2 – С. 323-326.
6. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руко-

- водство. / Автандилов Г.Г. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
7. Брусилловский А.И., Бессалова Е.Ю., Королев В.А. Реверсивный принцип использования гистологических красителей для анализа амфотерных соединений / А.И. Брусилловский, Е.Ю. Бессалова, В.А. Королев // Материалы IX Международного конгресса Международной ассоциации морфологов. Морфология. – 2008. – Т. 133, №. 2 – С. 21.
 8. Arkadiy I Brusilovskiy. AV H&E And Reproductive System / Arkadiy I Brusilovskiy, Vitaliy A. Korolev, Yevgeniya Yu. Bessalova.// New philosophy in histotechnology. Special publication for annual meeting of California society for histotechnology, 2007. – P. 7.

Надійшла 12.09.2011 р.
Рецензент: проф. С.А.Кашенко

УДК 611.61.018: 531.5:613.693

© Пикалюк В.С., Волковец Д.В., Нечипоренко Г.В., Кривенцов М.А., 2011

УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПАРЕНХИМЫ ПОЧКИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ГИПЕРГРАВИТАЦИИ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ФИЗИЧЕСКОГО ИЛИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДОВ КОРРЕКЦИИ

Пикалюк В.С., Волковец Д.В., Нечипоренко Г.В., Кривенцов М.А.

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

Пикалюк В.С., Волковец Д.В., Нечипоренко Г.В., Кривенцов М.А. Ультрамикроскопические изменения паренхимы почки под воздействием гипергравитации в условиях применения физического или фармакологического методов коррекции // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 202-205.

В эксперименте исследованы ультраструктурные изменения клеток паренхимы почки крыс при воздействии гипергравитации на протяжении 10 и 30 дней на фоне применения физического или фармакологического метода защиты. По результатам ультраструктурного анализа выявлено, что клетки паренхимы почки претерпевают значительные изменения в виде дистрофии клеток, нарушения энергетического метаболизма и трофических процессов. На ультрамикроскопическом уровне выявлено корригирующее действие глутаргина при 10-кратном воздействии перегрузок.

Ключевые слова: гипергравитация, почка, ультраструктура.

Пикалюк В.С., Волковец Д.В., Нечипоренко Г.В., Кривенцов М.А. Ультрамикроскопічні зміни паренхіми нирки при дії гіпергравітації за умов застосування фізичного та фармакологічного методів корекції // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 202-205.

В експерименті досліджено ультраструктурні зміни клітин паренхіми нирки щурів при дії гіпергравітації протягом 10 та 30 діб за умов застосування фізичного або фармакологічного методу корекції. За результатами ультраструктурного аналізу виявлено, що клітини паренхіми нирки значно змінюються при дії гіпергравітації, характеризуючись дистрофією клітин, порушеннями енергетичного метаболізму та трофічних процесів. На ультрамикроскопічному рівні виявлено коригуючу дію глутаргїну при 10-кратній дії перевантажень.

Ключові слова: гіпергравітація, нирка, ультраструктура.

Pikalyuk V.S., Volkovets D.V., Nechiporenko G.V., Kriventsov M.A. Ultrastructural changes in rat's kidney under influence of the hypergravity factor with physical and pharmaceutical correction methods // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 202-205.

The aim of this experimental work is to investigate ultrastructural changes in rat's kidney under the influence of the hypergravity factor for 10 or 30 days with physical and pharmaceutical correction method. Results of the ultrastructural analysis have shown significant changes of the kidney cells. Changes were characterized as dystrophy, disturbances of the energetic metabolism and trophy processes. There was shown, that glutargin has a modest correction action under 10-day influence of the hypergravity factor.

Key words: hypergravity, kidney, ultrastructure.

На всех этапах филогенеза организм находится под воздействием фактора гравитации (силы тяжести), который неразрывно связан с процессом развития и дифференцировки всех клеточных систем организма [2, 5, 6]. 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 не приспособленным к изменению гравитационного компонента, поскольку, с определенной степенью уверенности, можно утверждать, что сила притяжения является 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 последствий негативного воздействия перегрузок на различные органы и системы, а также поиска и экспериментального апробирования различных методов защиты от данного воздействия. Учитывая бурно развивающуюся не только военную, но и гражданскую авиацию и коммерческую 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** - оценить на субклеточном уровне морфологические изменения коркового вещества почек крыс различных возрастных групп под воздействием поперечно-направленных гравитационных перегрузок на фоне применения различных способов защиты.

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

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

2. Определить закономерности характера и выраженности ультраструктурных преобразований коркового вещества почек крыс, подвергавшихся воздействию гипергравитации на фоне применения физического или фармакологического способа защиты, в зависимости от возраста крыс и продолжительности экзогенного воздействия.

3. Установить основные возможные патогенетические механизмы развития структурных субклеточных преобразований компонентов коркового вещества почек под воздействием различного по протяженности 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. Эксперимент был проведен на 180 белых крысах-самцах линии Вистар, которые были разделены на несколько групп, включавших три экспериментальные (Э1, Э2 и Э3) и две контрольные (К1 и К2) группы. Подопытных 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) методов защиты. В каждой из групп выделяли по 3 подгруппы в зависимости от онтогенетического периода экспериментальных животных на момент начала эксперимента - 2-х (неполовозрелые), 6-ти (половозрелые) и 12-ти месячные (предстарческие). Также выделяли по 2 серии: А - период воздействия гравитационных перегрузок 10 дней, Б - период воздействия гравитационных перегрузок 30 дней (см. таблицу 1). 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 - 1,4-1,6 ед/с., спада - соответственно 0,6-0,8 ед/с. Эксперимент проводили 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]. Для этого крыс второй экспериментальной группы помещали в герметичный пластиковый контейнер, обеспеченный системой вентиляции, который в свою очередь располагали в металлическом цилиндре, который был заполнен водой.

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

Фармакологический способ защиты заключался в парентеральном применении препарата Глутаргин, в состав которого входят аминокислоты L-аргинин и глутаминовая кислота (фармацевтическая компания "Здоровье", г. Харьков). Препарат вводили в дозировке 100 мг/кг веса животного непосредственно перед воздействием гипергравитации [2]. После выведения экспериментальных животных из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом с соблюдением биоэтических норм, забирали обе почки для проведения дальнейшего электронно-микроскопического исследования по общепринятой методике, которая включала фиксацию в глотаральдегиде на фосфатном буфере, с последующей фиксацией в 1% растворе четырехоксида осмия, заливку в смолу с последующей полимеризацией, изготовление полутонких и ультратонких срезов на ультрамикротоме ULTRACUT с их последующим контрастированием. Полученные ультратонкие срезы просматривали и фотодокументировали на электронном микроскопе ПЭМ-125К.

Результаты и их обсуждение. При воздействии поперечно-направленных гравитационных перегрузок на фоне применения физического метода защиты структурно-функциональные компоненты коркового вещества почек экспериментальных крыс различных возрастных подгрупп характеризовались значительными ультраструктурными изменениями, затрагивающими как структуры почечных телец, так и каналцы нефрона.

Для гломерулярного аппарата характерны умеренные ультраструктурные изменения, проявляющиеся отеком и дистрофией эндотелиоцитов капилляров сосудистого клубочка, укорочением цитоплазматических выростов подоцитов, снижением функциональной активности трансэндотелиального транспорта (рис. 1). Данные изменения наиболее характерны для 30-дневной продолжительности эксперимента. При увеличении кратности воздействия ускорения до 30 сеансов отмечали повышение коллагенообразующей активности клеток фибробластического ряда, что свидетельствует об активизации процессов склероза. Ультрамикроскопические изменения структурных, преимущественно проксимальных, компонентов каналцев, преимущественно проксимальных, в данной экспериментальной подгруппе, как правило, преобладали над изменениями структур клубочкового аппарата

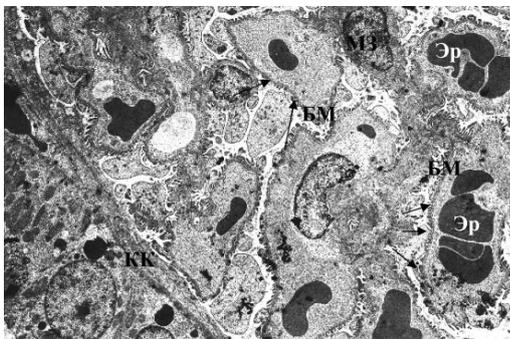


Рис. 1. Ультраструктура компонентов почечного тельца. БМ - базальная мембрана, КК - капсула клубочка, МЗ - мезангиоцит, Эр - эритроциты в просветах капилляров. Стрелками обозначены укороченные цитоподии подоцитов. Группа Э2-2А, ув. x4000.

Базальная мембрана каналцев была представлена тонкой ровной структурой, имеющей одинаковую электронную плотность на всем своем протяжении. В апикальной части цитоплазмы эпителия проксималь-

ных каналцев обнаружили значительные электронно-светлые участки, соответствующие внутриклеточному отеку (рис. 2). При этом, в большинстве случаев, щеточная кайма атрофирована, а апикальная клеточная мембрана в некоторых эпителиальных клетках подвергалась разрушению. Органеллы определялись, преимущественно, в базальной части клеток, среди которых наиболее многочисленными являлись митохондрии различной формы с частично разрушенными кристами. Ядра эпителиальных клеток были представлены крупными структурами, содержащими эухроматин и несколько мелких ядрышек.

Следует отметить, что наиболее выраженные ультрамикроскопические изменения наблюдались в подгруппах неполовозрелых и престарелых животных, что, вероятно, обусловлено снижением адаптационно-приспособительного потенциала организма к повторяющемуся экзогенному воздействию.

При 10 сеансах поперечно-направленных перегрузок в условиях применения фармакологической коррекции глутаргином во всех трех возрастных подгруппах (подгруппы Э3-1А, Э3-2А и Э3-3А) выявленные ультрамикроскопические изменения структур почечного тельца и каналцев нефрона характеризовались умеренными, вполне обратимыми структурными преобразованиями. Характерным в первой и второй возрастных подгруппы явилось обнаружение признаков ангиогенеза кровеносных сосудов микроциркуляторного русла в интерстициальном пространстве (рис. 3).

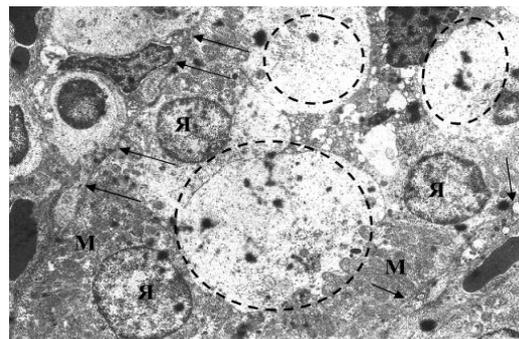


Рис. 2. Ультраструктура эпителиоцитов проксимальных каналцев. Я - ядра эпителиальных клеток, М - митохондрии. Стрелками обозначена базальная мембрана каналца. Пунктиром обозначены участки просветления в апикальной части цитоплазмы эпителиоцитов. Группа Э2-2Б, ув. x8000.

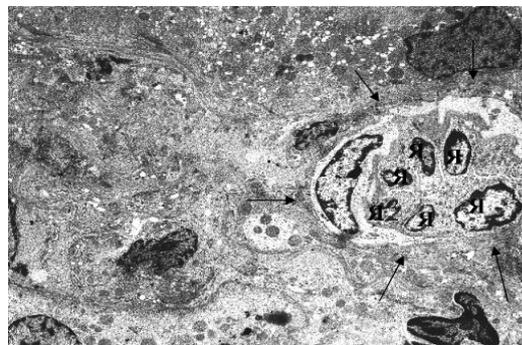


Рис. 3. Прекапилляр в интерстициальном пространстве коркового вещества почки. Я - перпендикулярно ориентированные ядра эндотелиоцитов. Стрелками обозначена периваскулярная соединительная ткань. Группа Э3-1А, ув. x4000.

При 10-кратном воздействии гипергравитации в подгруппах экспериментальных животных, получавших глутаргин, ультрамикроскопические изменения носили минимальный характер, возрастая с увеличением кратности воздействия перегрузок (рис. 4).

Однако, даже при увеличении срока эксперимента до 30 суток субклеточная морфология структур почечного тельца оставалась практически интактной. В эпителиоцитах проксимальных канальцев наблюдались типичные ультрамикроскопические изменения, характеризующиеся внутриклеточным отеком, уменьшением выраженности щеточной каемки и деструкцией крист митохондрий.

Как и в подгруппе экспериментальных животных, подвергавшихся воздействию гипергравитации на фоне применения физического метода защиты, при большой кратности воздействия перегрузок с фармакологической коррекцией наиболее выраженные изменения наблюдали в подгруппе предстарческих животных.

На ультраструктурном уровне применение физического метода защиты или глутаргина не исключали в полной мере возникновения патологических структурных преобразований, особенно при увеличении кратности воздействия перегрузок до 30 сеансов. Характерной особенностью морфогенеза 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. Одной из особенностей ультрамикроскопического анализа структуры коркового вещества почек экспериментальных крыс, подвергавшихся воздействию гипергравитации на фоне применения глутаргина, являлась активация процессов ангиогенеза в интерстициальном пространстве.

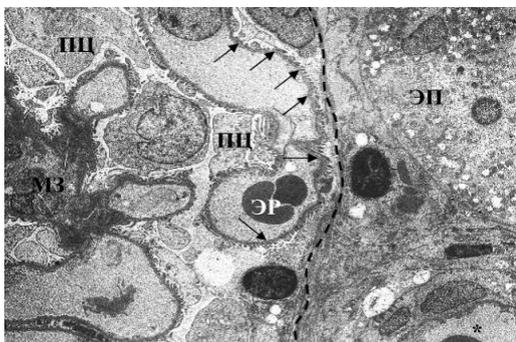


Рис. 4. Ультраструктура структур почечного тельца. ЭР - эндотелии в просвете капилляра сосудистого клубочка, ПЦ - подоцит, МЗ - мезангиоцит. Стрелками обозначена базальная мембрана капилляра. Пунктирной линией обозначена капсула клубочка, к которой прилежит эпителиоцит проксимального канальца (ЭП). Звездочкой (*) обозначен просвет артериолы, окруженной периплазмами. Группа ЭЗ-2А, ув. х4000.

Обобщая результаты описательного гистологического анализа, гистоморфометрического анализа [1] 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 почечного тельца и интерстициальной ткани;
- воздействие на эпителиальные клеточные элементы, выстилающие капсулу тельца нефрона, его проксимальные и дистальные канальцы.

Таким образом, на основании проведенного ультрамикроскопического анализа структурных изменений основных компонентов коркового вещества почек экспериментальных крыс, подвергавшихся воз-

действию гипергравитации на фоне применения физического или фармакологического методов защиты, можно сделать следующие **выводы**:

1. При воздействии гипергравитации типичные ультрамикроскопические изменения характеризуются интрацеллюлярным отеком, утолщением базальной мембраны капилляров и канальцев, вакуолизацией митохондрий с деструкцией их крист, а также признаками склерозирования интерстициального пространства.

2. Наиболее выраженные изменения на субклеточном уровне наблюдали в подгруппах неполовозрелых и предстарческих крыс, подвергавшихся 30-кратному воздействию перегрузок, вне зависимости от применения того или иного способа защиты.

3. Применение физического метода защиты или глутаргина не исключали в полной мере возникновения патологических ультраструктурных преобразований, вызванных 30-кратными гравитационными перегрузками, хотя при 10-кратном воздействии применение глутаргина в значительной степени нивелировало патологические преобразования ультраструктуры компонентов нефрона.

4. Основываясь на данных проведенного анализа, выделено два основных патогенетических вектора негативного воздействия поперечно-направленных перегрузок: поражение сосудистого компонента почечного тельца и интерстициальной ткани, а также эпителиальных клеточных элементов, выстилающие гломерулярную капсулу, проксимальные и дистальные канальцы нефрона.

В дальнейшем планируется провести комплексный анализ полученных данных гистологического, гистоморфометрического и ультрамикроскопического методов исследования с целью установления возможных характерных признаков и закономерностей структурных перестроек коркового вещества почки экспериментальных крыс, подвергавшихся воздействию гипергравитации с использованием и без использования различных методов коррекции.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Волковец Д.В., Пикалюк В.С. Гистоморфологические изменения почечной паренхимы крыс различного онтогенетического периода при воздействии гипергравитационных перегрузок / Д.В. Волковец, В.С. Пикалюк // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения. – 2010. – Т.145, Ч. 5. – С. 50-54.
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://omdr.narod.ru/gip/dubrov1.htm>
3. Пат. на полезную модель №35792 Украина МПК (2006) А61В 5/145 Способ коррекции неблагоприятного действия гравитационных перегрузок в эксперименте / Пикалюк В.С., Кутя С.А., Мороз Г.А., Коняева Е.И. - № u200803985; заявл. 31.03.2008; опубл. 10.10.2008, Бюл. №19.
4. Пикалюк 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
5. 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.
6. Таирбеков М.Г. Эволюция взаимодействия живых систем с окружающей средой / М.Г. Таирбеков // Авиакосмическая и экологическая медицина. –2002. –Т. 36, №4. –С. 3-14.

Надійшло 11.09.2011 р.

Рецензент: проф. В.І.Лузін