

© Пикалюк В.С., Гафарова Э.А., Кривенцов М.А., 2013

УДК 611.36:531.5:613.693

## УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ПЕЧЕНИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ГИПЕРГРАВИТАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*В.С.Пикалюк, Э.А.Гафарова, М.А.Кривенцов*

*Кафедра анатомии человека (зав. – проф. В.С.Пикалюк) Крымского государственного медицинского университета им. С.И.Георгиевского, г. Симферополь*

---

### УЛЬТРАМИКРОСКОПІЧНА БУДОВА ПЕЧІНКИ ПІД ВПЛИВОМ ГІПЕРГРАВІТАЦІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

**Резюме.** Установлено, що найтяжчі субклітинні зміни, які свідчать про негативний вплив гіпергравітації, спостерігаються у щурів зрілого віку, а також у щурів, що піддавалися тривалішому впливу перевантажень. Застосування фізичного та фармакологічних методів корекції лише частково нівелювало негативні наслідки систематичного впливу поперечно-спрямованих перевантажень значної величини.

**Ключові слова:** гіпергравітація, печінка, ультраструктура.

---

Систематическое воздействие на организм искусственно создаваемых факторов внешней среды в экстремальных режимах может привести к истощению адаптационных резервов и, в конечном итоге, к развитию различных патологических состояний. Одним из таких факторов является гипергравитация (Гг), которой подвержены космонавты и пилоты сверхзвуковой авиации в рамках их профессиональной деятельности [1]. Адаптация к невесомости, сопровождающей космический полет, может быть ассоциирована со снижением функциональных возможностей организма и его устойчивости к различным воздействиям, в первую очередь, связанных с возвращением на Землю. Существенно сниженной может оказаться устойчивость космонавтов к перегрузкам при вхождении корабля в плотные слои атмосферы, при возникновении значительных по величине и продолжительности Гг. В настоящее время по результатам проведенных исследований на летном составе накоплен обширный материал. Установлены признаки общей астенизации и детренированности космонавтов, которые связаны с развитием нарушений обменных функций, функционирования костно-мышечной, сердечно-сосудистой и других систем организма [2]. Однако вопрос о преобразованиях печени, их типах и обратимости, возникающих под воздействием Гг, на протяжении многих лет

не находил должного отражения в космической и авиационной медицине.

**Цель исследования:** оценить на субклеточном уровне морфологические изменения печени крыс различных возрастных групп под воздействием поперечно-направленных гравитационных перегрузок без применения и на фоне применения различных способов защиты.

**Материал и методы.** Экспериментальное исследование проведено в рамках НИР кафедры нормальной анатомии человека КГМУ (№ 0104U002080). Все крысы, подвергавшиеся систематическому воздействию Гг, были разделены на 4 экспериментальных серии: 1-я экспериментальная серия (Э1) – крысы, подвергавшиеся систематическому воздействию Гг без применения какого-либо способа защиты; 2-я (Э2) – крысы, подвергавшиеся систематическому воздействию Гг на фоне применения физического способа защиты; 3-я (Э3) – крысы, подвергавшиеся систематическому воздействию Гг на фоне применения препарата Глутаргин; 4-я (Э4) – крысы, подвергавшиеся систематическому воздействию Гг на фоне применения препарата Липофлакон. Все контрольные и экспериментальные серии крыс были аналогичным образом разделены на возрастные группы (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, 30-дневный эксперимент – подгруппа В) (таблица).

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 проводили 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 мин. каждый с интервалом между ними в 30 с. В качестве способов защиты от негативного воздействия Гг в данном исследовании использовали физический способ защиты и метод фармакологической коррекции препаратами Глутаргин и Липофлавон (экспериментальные серии Э2, Э3 и Э4 соответственно) [3-5]. После выведения животных из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом, для проведения ультрамикроскопического исследования иссекали участки паренхимы печени. Фиксацию и проводку препаратов печени осуществляли по стандартной методике с использованием глутаральдегида и 1% раствора четырехоксида осмия. Полутонкие срезы (1 мкм) изготавливали на ультратоме УМПП-7, окрашивали метиленовым синим и просматривали в световом микроскопе для ориентировочного определения характера материала. После этого изготавливали ультратонкие срезы (30-60 нм), которые после окраски по Рейнольдсу просматривали и фотографировали на электронном микроскопе ПЭМ-125 на фотопластинки «KODAK» при различных увеличениях.

**Результаты исследования.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что при дли-

тельном воздействии Гг в печени крыс различных возрастных групп развиваются выраженные изменения. Данные изменения наиболее выражены в группе животных зрелого возраста вне зависимости от экспериментальной подгруппы. В зависимости от применения различных защитных методов и при отсутствии защиты в ткани печени определялись различные вариации компенсаторно-приспособительных и дистрофически-деструктивных изменений.

Наиболее выраженные субмикроскопические изменения выявляли в экспериментальных подгруппах крыс зрелого возраста (Э1-ША и Э1-ШВ), а также в экспериментальных подгруппах крыс, подвергавшихся более длительному, 30-кратному воздействию Гг. В междольковой соединительной ткани отмечали явления отека и разволокнения, коллагеновые и эластические волокна располагались хаотично. Отмечали очаговые периваскулярные скопления лимфоцитов и плазмочитов. По ходу сосудов определяли единичные скопления осмиофильных гранул, которые, вероятно, представляли собой скопления гемосидерина, как исход петехиальных кровоизлияний. Около таких скоплений обнаруживались макрофаги, содержащие переменное количество округлых сидеросом различного диаметра, располагающихся преимущественно вокруг ядра. Кроме того, в ряде наблюдений обнаруживались скопления эритроцитов вокруг междольковых вен на фоне выраженного интерстициального отека, что связано, по всей видимости, с высокой сосудистой проницаемостью гипоксического и гидростатического генеза. В стенках отдельных междольковых сосудов обнаруживали явления склероза, гиалиноза, сопровождавшиеся сужением их просвета, иногда вплоть до полной облитерации.

В большинстве случаев наблюдалось полнокровие синусоидных капилляров, нередко сопровождавшееся паралитическим расширением сосудов, а также явления стаза и сладж-синдрома с

Таблица

Содержание эксперимента

Серия	Группа (возраст крыс)			Подгруппа (срок эксперимента)		Количество животных
				10 дней	30 дней	
Контроль К1	Ю	М	Зр	А	В	36
Контроль К2	М			А	В	12
Экспериментальная серия Э1	Ю	М	Зр	А	В	36
Экспериментальная серия Э2	Ю	М	Зр	А	В	36
Экспериментальная серия Э3	М			А	В	12
Экспериментальная серия Э4	М			А	В	12

образованием тромбов в некоторых участках. Во многих наблюдениях просвет капилляров был заполнен плотно прилегающими друг к другу эритроцитами, что свидетельствует о склонности к образованию микротромбов в капиллярах. Как правило, в таких сосудах отмечались явления повышенной проницаемости их стенок вследствие, прежде всего, разрыхления межклеточных контактов между эндотелиоцитами и расширения межклеточных щелей. В результате этого обнаруживались явления отека различной степени выраженности. Нами выявлены признаки выраженного интерстициального отека, а также внутриклеточный отек эндотелиоцитов, сопровождавшийся снижением электронной плотности цитоплазмы эндотелиоцитов, накоплением в ней большого количества вакуолей и микропиноцитозных везикул, расширением профилей цитоплазматической сети, расширением митохондрий с дисконкомплексацией и дезориентацией крист. Ядра эндотелиоцитов приобретали неправильную форму, хроматин их конденсировался по периферии кариолеммы в виде глыбок. В ряде случаев обнаруживались дефекты, разрывы кариолеммы. Единичные клетки находились в состоянии глубокой деструкции. Перисинусоидальное пространство практически всегда являлось местом скопления отечной жидкости как следствия повышенной сосудистой проницаемости. При этом наблюдалось его расширение и просветление.

В условиях воздействия гипергравитации, особенно на протяжении 30 сеансов (экспериментальные подгруппы В), в гепатоцитах на ультрамикроскопическом уровне также были характерные изменения. Ядра гепатоцитов сохраняли свое центральное расположение и округлую форму, однако отмечалось выраженное в различной степени разрыхление хроматина, распад его на отдельные глыбки с их конденсацией около кариолеммы (рис. 1). Обращало на себя внимание неравномерное расширение перинуклеарного пространства, просветление и снижение электронной плотности цитоплазматического матрикса. Многочисленные митохондрии, неравномерно распределенные в цитоплазме, имели округлую форму, выглядели набухшими, матрикс их имел низкую электронную плотность. Отмечалась дисконкомплексация и дезориентация крист. Выявляли расширение и вакуолизацию канальцев эндоплазматической сети, сочетавшуюся с уменьшением количества рибосом, как входивших в состав гранулярной цитоплазматической сети, так и расположенных свободно в гиалоплазме. Отмечалась умеренная гипертро-

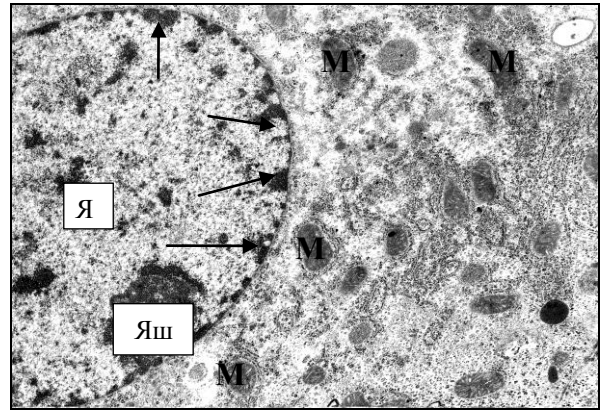


Рис. 1. Конденсация хроматина (стрелки) в ядре гепатоцита (Я) на фоне умеренного интрацеллюлярного отека. Ядрышко гепатоцита (Яш), митохондрии (М). Э1-ПВ. Электронограмма. Ув. 8000<sup>x</sup>.

фия комплекса Гольджи со скоплением вокруг него мелких осмиофильных гранул. В части гепатоцитов, располагавшихся в периферических отделах дольки, отмечалось скопление различного размера осмиофильных вакуолей, которые представляли собой липидные включения (рис. 2).

В отличие от экспериментальных подгрупп крыс ювенильного и молодого возраста, подвергавшихся 30-кратному воздействию Гг без применения защиты, в подгруппе крыс зрелого возраста гепатоциты подвергались наиболее выраженным деструктивно-дистрофическим преобразованиям, которые зачастую носили необратимый характер. Ультрамикроскопическая картина части гепатоцитов в данной экспериментальной группе характеризовалась признаками выраженной деструкции с разрушением или практически полным исчезновением внутриклеточных органелл на фоне выраженного внутриклеточного отека (рис. 3). В таких гепатоцитах отмечалась очаговая, реже диффузная гомогенизация крист и разрушение базальной мембраны митохондрий, что свидетельствует о необратимости деструктивных процессов.

Ультрамикроскопическое исследование экспериментальной серии крыс, подвергавшихся воздействию Гг на фоне применения физического метода защиты, выявило следующие особенности. Данные изменения, как и в экспериментальной серии крыс, подвергавшихся воздействию перегрузок без защиты, носили наибольшую выраженность в подгруппе крыс зрелого возраста и в подгруппах крыс, подвергавшихся более длительному воздействию (30 сеансов). Степень интерстициального и внутриклеточного отека значительно варьировала, однако это не приводило к деструктивным изменениям в эндо-

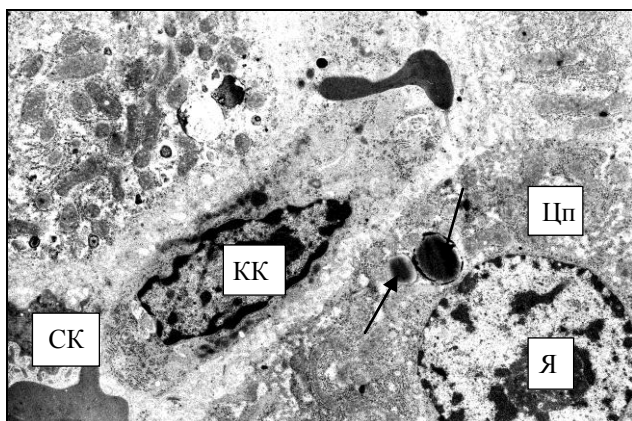


Рис. 2. Участок ядра (Я) и цитоплазмы (Цп) гепатоцита и прилежащий к нему синусоидный капилляр (СК) с клеткой Купфера (КК). Осмиофильные включения в цитоплазме гепатоцита (стрелки). Признаки внутриклеточного отека. Э1-ПВ. Электронограмма. Ув. 4000<sup>x</sup>.

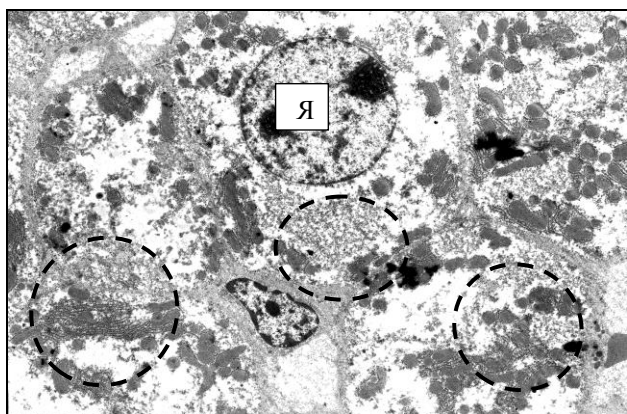


Рис. 3. Выявленный внутриклеточный отек гепатоцитов (ядро – Я). Неравномерное распределение гранул гликогена со скоплением вблизи клеточной мембраны (пунктирная линия). Выявленная деструкция митохондрий и эндоплазматической сети, просветление цитоплазмы. Электронограмма. Э1-ПВ. Ув. 3000<sup>x</sup>.

телиальных клетках. Сохранялась умеренная тенденция к формированию стаза и сладжа эритроцитов на фоне паретического расширения сосудов. Перисинусоидальное пространство также выглядело отечным, что сопровождалось значительным интрацеллюлярным отеком и ультрамикроскопическими изменениями контактов между гепатоцитами, что на гистологическом уровне исследования проявлялось в дезорганизации печеночных балок (рис. 4).

Эндотелиальные клетки также подвергались дистрофии и внутриклеточному отеку, однако выявленные изменения носили обратимый характер. Среди гепатоцитов определялось большее, чем в контрольной группе, количество двухядерных форм и клеток с умеренными дистрофическими изменениями. Такие изменения про-

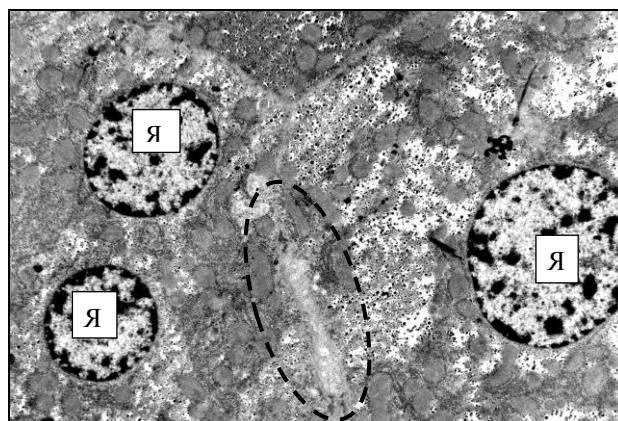


Рис. 4. Выраженные дистрофические изменения гепатоцитов. Гиперконденсация хроматина в ядрах (Я) гепатоцитов, участки просветления перинуклеарного пространства и цитоплазмы. Расширение межклеточных контактов (пунктирная линия) за счет интерцеллюлярного отека. Э2-ПВ. Электронограмма. Ув. 3000<sup>x</sup>.

являлись в дезориентации и дезорганизации крист митохондрий, просветлении матрикса ядра с конденсацией его в виде глыбок, очаговой фрагментации мембранных внутриклеточных структур. Звездчатые ретикулоэндотелиоциты находились в состоянии высокой функциональной активности, содержали множество мелких митохондрий, лизосом и фаголизосом, плазмолемма их имела множественные микроворсинки и выросты.

В экспериментальной группе с применением в качестве гепатопротектора Глутаргина отмечались выраженные компенсаторно-приспособительные изменения на фоне слабовыраженных явлений дистрофии как со стороны ретикулоэндотелиальной системы, так и со стороны печеночных клеток. Перисинусоидальное пространство выглядело практически неизменным, лишь в единичных случаях определялось его расширение и просветление с очаговыми скоплениями в нем эритроцитов. Гепатоциты данной группы характеризовались наличием в цитоплазме большого количества свободных и связанных с эндоплазматической сетью рибосом, что свидетельствовало о высокой синтетической активности данных клеток. Определялись двухядерные формы (рис. 5), а также клетки с отечными, дистрофически измененными органеллами. При увеличении кратности систематического воздействия Гг до 30 сеансов при ультрамикроскопическом исследовании печени крыс экспериментальной серии с применением препарата Глутаргин, деструктивно-дистрофические изменения носили более выраженный характер.

Ультрамикроскопическая картина печени

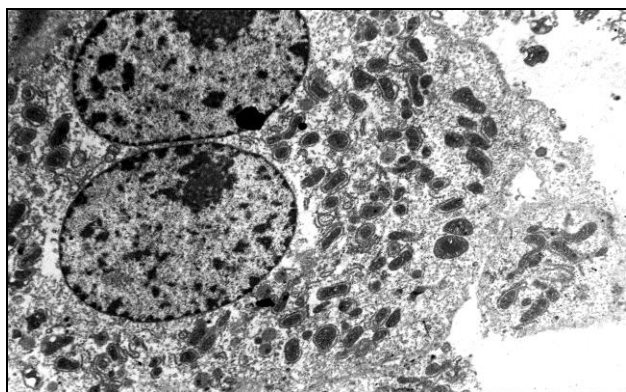


Рис. 5. Двухядерный гепатоцит с гиперконденсацией хроматина на внутренней стороне кардиолеммы. Многочисленные митохондрии, хорошо развитая эндоплазматическая сеть с большим числом рибосом. ЭЗ-А. Электронограмма. Ув. 5000<sup>x</sup>.

крыс экспериментальной группы, подвергавшихся воздействию Гг на фоне фармакологической коррекции препаратом Липофлавон, характеризовалась умеренными дистрофическими и компенсаторно-приспособительными изменениями.

Соотношение между данными противоположными тенденциями при 10-кратном воздействии было в пользу адаптационных реакций, а при 30-кратном – в пользу деструктивно-дистрофических преобразований.

**Выводы.** 1. При использовании электронномикроскопического метода в стромально-сосудистых и в паренхиматозных компонентах печени крыс выявлены характерные ультрамикроскопические изменения, степень выраженности которых зависела от возраста животных, кратности гипергравитационного воздействия и применения того или иного способа защиты. 2. Наиболее выраженные субклеточные изменения, свидетельствующие о негативном воздействии Гг, наблюдаются в подгруппах крыс зрелого возраста, а также в подгруппах, подвергавшихся более длительному воздействию перегрузок. 3. Применение физического и фармакологических методов коррекции лишь частично нивелирует негативные последствия систематического воздействия Гг значительной величины.

#### Список использованной литературы

1. Пащенко П.С. Изменения структуры поджелудочной железы после воздействия на организм гравитационных перегрузок / П.С.Пащенко, И.В.Захарова // Морфол. – 2006. – Т. 129, № 1. – С. 62-67.
2. Авиационная медицина [руководство] / под ред. Н.М.Рудного и др. – М.: Медицина, 1986. – 580 с.
3. Пат. 16546 Україна, МПК А 61В10/00. Пристрій для захисту біологічних об'єктів при гравітаційних перевантаженнях / Мостовий С.О., Пикалюк В.С. – № 200509257; заявл. 03.10.05; опубл. 15.03.06. Бюл. № 3.
4. 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. 31.03.08; опубл. 10.10.08. Бюл. № 19.
5. 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. 31.03.08; опубл. 25.11.08. Бюл. № 22.

#### УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ПЕЧЕНИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ГИПЕРГРАВИТАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

**Резюме.** Установлено, что наиболее выраженные субклеточные изменения, свидетельствующие о негативном воздействии гипергравитации, наблюдаются в крыс зрелого возраста, а также в крыс, подвергавшихся более длительному воздействию перегрузок. Применение физического и фармакологических методов коррекции лишь частично нивелировало негативные последствия систематического воздействия поперечно-направленных перегрузок значительной величины.

**Ключевые слова:** гипергравитация, печень, ультраструктура.

#### THE ULTRAMICROSCOPIC STRUCTURE OF THE LIVER UNDER THE INFLUENCE OF HYPERGRAVITATION IN AN EXPERIMENT

**Abstract.** It has been established that the severest subcellular changes indicative of a negative effect of hypergravitation are observed in rats of mature age as well as in rats that were subjected to a long-term exposure to overstrain. The use of both physical and pharmacological methods of correcting only partly eliminated the negative consequences of a systematic effect of transversely directed overloading of a considerable magnitude.

**Key words:** hypergravitation, liver, ultrastructure.

Crimean State Medical University Named after S.I.Georgievskyi (Simferopol)

Надійшла 25.12.2012 р.  
Рецензент – проф. К.С.Волков (Тернопіль)