

Морфологические аспекты влияния антиортостатической гипокинезии на течение экспериментального перитонита

Д.А.АСТАХОВ, М.В.БАРАНОВ, Д.Н.ПАНЧЕНКОВ, А.А.ПАЛЬЦЫН, Н.Б.СВИРИДКИНА, И.П.ДУБРОВИН, С.В.КОМИССАРОВА, А.А.НЕЧУНАЕВ

Morphological aspects of the influence of antiorthostatic hypokinesia on the experimental peritonitis

D.A.ASTAKHOV, M.V.BARANOV, D.N.PANCHENKOV, A.A.PALTSYN, N.B.SVIRIDKINA, I.P.DUBROVIN, S.V.KOMISSAROV, A.A.NECHUNAEV

Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии РАМН
Московский государственный медико-стоматологический университет

Цель работы: воспроизвести перитонит в условиях, моделирующих эффекты невесомости и выявить морфологические особенности его развития. Исследования выполняли на 80 белых беспородных крысах. Все животные разделены на 4 группы по 20 особей в каждой. 1-я группа – виварийный контроль; 2-я – антиортостатической гипокинезии (АНОГ); 3-я – перитонит; 4-я – сочетание АНОГ+перитонит. Эффекты АНОГ достигались путем вывешивания крыс на специальном стенде на срок 14 дней с последующим формированием перитонита. Индукция перитонита осуществлялась путем лапаротомии, рассечения толстой кишки на протяжении 0,5 см с последующим ушиванием лапаротомной раны. Через 24 часа животных выводили из эксперимента путем декапитации. Для морфологического исследования использовались печень и поджелудочная железа. Наиболее заметными морфологическими изменениями печени при АНОГ и перитоните были нарушения циркуляции – незначительные при АНОГ и грубые при перитоните. АНОГ вызывает застой крови и избыточное накопление в клетках зимогена. Перитонит приводит к нарушению структурного оформления зимогена. Сочетание АНОГ и перитонита приводит к тому, что обусловленный перитонитом аутолиз панкреоцитов усиливается высоким содержанием зимогена при АНОГ и реализуется в распространенный панкреонекроз. Морфологический анализ обнаружил, что в условиях микрогравитации деструктивные изменения, обусловленные перитонитом, в печени уменьшаются, а в поджелудочной железе увеличиваются.

Ключевые слова: перитонит, антиортостатическая гипокинезия

The purpose of this study was to reproduce peritonitis in simulating the effects of weightlessness and to identify the morphological features of its development. Methods. Eighty white rats were divided into 4 groups: (1) vivarium control, (2) antiorthostatic hypokinesia (AH), (3) peritonitis alone, and (4) AH with peritonitis. Effects of AH were achieved by putting rats on a special stand for a period of 14 days, followed by the formation of peritonitis. Peritonitis was induced by laparotomy, cross-section of the colon length of 0.5 cm followed by suturing laparotomic wound. Twenty-four hours after the operation, the rats were killed by decapitation; and their liver and pancreas have been investigated. The most noticeable morphological changes in the liver during AH and peritonitis were circulation disorders - a minor under AH, and rough with peritonitis. AH causes congestion and excessive accumulation of zymogen in the pancreatic cells. Peritonitis leads to disruption of the structural design of zymogen. The combination of AH and peritonitis leads to the fact that autolysis of pancreatic cells caused by peritonitis amplified with a high content of zymogen caused by AH and implemented in the common pancreonecrosis. Morphological analysis revealed that in microgravity the destructive changes caused by peritonitis in liver decrease and increase in the pancreas.

Key words: peritonitis, antiorthostatic hypokinesia

В настоящее время полеты в космос становятся более длительными, увеличивается время воздействия на организм космонавта необычных экологических условий. Вместе с тем, опыт пилотируемых миссий и биоспутников, эксперименты по изучению влияния отдельных факторов космического полета на организм человека и животных в наземных условиях, показали, что практически все системы организма, в той или иной степени, подвергаются изменениям. Функциональные сдвиги, развивающиеся под влиянием микрогравитации в организме человека, представляют собой сочетание специфических изменений, обусловленных

физической природой этого фактора, а также вторичных проявлений, связанных с адаптивными реакциями. Общеизвестно, что устранение гидростатического давления, вызванное невесомостью, сопровождается перераспределением жидких сред организма [5,6,14-16] в краниальном направлении. Это не может не затрагивать органы брюшной полости. Исследования, проведенные на станции «Мир» в условиях длительных космических полетов, выявили замедление эвакуации пищи из желудка, явления венозного полнокровия печени и поджелудочной железы [1,10]. Последние выражались в увеличении их размеров, снижении

эзогенной плотности паренхимы указанных органов, что указывает на увеличение гидрофильности тканей (ультразвуковые признаки отека органов) [2,13]. Увеличение полнокровия органов брюшной полости может не только изменять их функциональное состояние, но и существенным образом влиять на течение патологических процессов при их возникновении в системе желудочно-кишечного тракта. Однако работ по изучению влияния микрогравитации на течение патологических процессов, вообще, и в брюшной полости, в частности, практически нет. Вместе с тем, стресс, сопровождающий космонавта в условиях космического полета, нарушения привычного режима питания, на фоне функциональных перестроек в системе желудочно-кишечного тракта, могут приводить к развитию таких серьезных патологических состояний как дискинезия желчевыводящих путей, острые гастриты, энтероколиты, колиты, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, острый аппендицит, острый холецистит, желчнокаменная болезнь и др. [4]. Некоторые из этих состояний без адекватной терапии способны приводить к развитию такого грозного осложнения как перитонит.

Целью настоящего исследования явилось воспроизведение перитонита в условиях, моделирующих эффекты невесомости, и выявление морфологических особенностей его развития.

Материалы и методы

Исследования выполняли на 80 белых беспородных крысах, приблизительно одного возраста (2-3 месяца), массой 240-330 грамм. Все животные находились в одинаковых условиях при постоянной температуре окружающей среды 23-26°C, получали одинаковое питание, были оперированы в одинаковых временных рамках. Все животные разделены на 4 группы по 20 особей в каждой. 1-я группа – виварий-

ный контроль; 2-я группа - антиортостатическая гипокинезия (АНОГ); 3-я группа - перитонит; 4-я группа - сочетание АНОГ+перитонит. Эффекты АНОГ достигались путем вывешивания крыс на специальном стенде на срок 14 дней с последующим формированием перитонита.

Стенд представляет собой каркас, на котором по двум направляющим рельсам перемещается балка с подвижной кареткой. Каретка может двигаться в любом направлении в пределах горизонтальной плоскости над сетчатым полом размером 40 на 40 см, под которым помещается поддон для сбора экскрементов. Для подвешивания животного к подвижной каретке в целях обеспечения равномерного распределения весовой нагрузки на туловище используется специальная система, состоящая из капронового костюма для крысы с отверстиями для конечностей с двумя металлическими пластинами на спинке животного, к которым фиксируется костюм, что удерживает тело животного от провисания и позволяет придать избранный угол вывешивания для всего тела.

Индукция перитонита. Операция осуществлялась под эфирным наркозом. Выполнялась срединная лапаротомия, продольное сечение толстой кишки на протяжении 0,5 см. Место пересечения – 1 см дистальнее слепой кишки. После этого производилось послойное ушивание лапаротомной раны непрерывным швом. Операционное поле обрабатывали раствором антисептика, животное перевязывали и помещали в клетку. Через 24 часа животных выводили из эксперимента путем декапитации на гильотине (Open Science).

Для гистологического исследования извлекали интересующие органы (поджелудочная железа с участком двенадцатиперстной кишки и печень). Фиксацию и проводку материала с последующим приготовлением парафиновых и полутонких срезов производили общепринятыми способами [3, 9]. Препараты окраши-

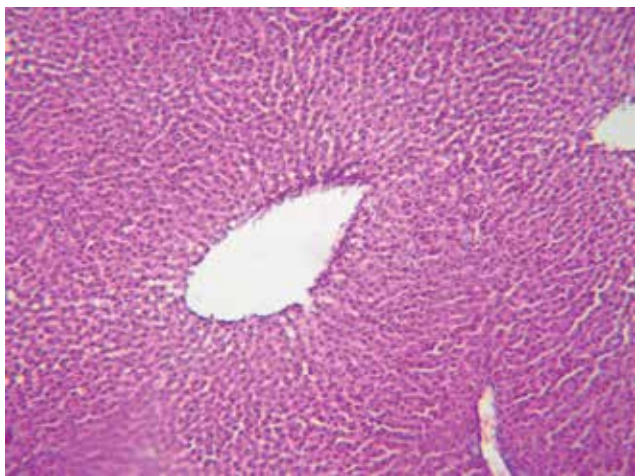


Рис. 1. Печень животного, подвергнутого действию АНОГ в течение 14 дней. Умеренное расширение синусоидов одинаково выражено как в центрилобулярных, так и в перипортальных отделах долики. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. микроскопа x100.

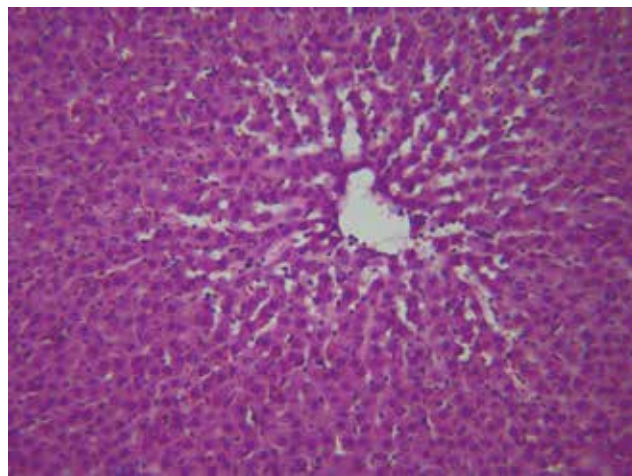


Рис. 2. Печень животного, подвергнутого действию АНОГ в течение 14 дней. Расширение синусоидов увеличивается по мере приближения к центральной вене. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. микроскопа x400.

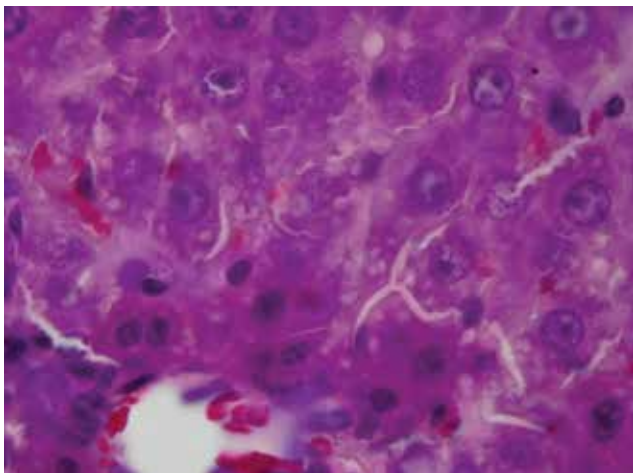


Рис. 3. Печень крысы при перитоните. Эритроциты между балок и в центральной вене. Крупнокапельная вакуолярная дистрофия центрилобулярных гепатоцитов. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. микроскопа x1000.

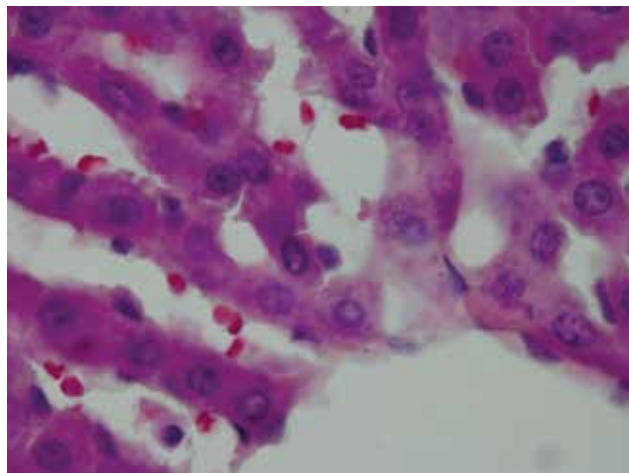


Рис. 4. Печень крысы при перитоните. Резкий отек, выраженное расширение синусоидов, кровь в них. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. микроскопа x600.

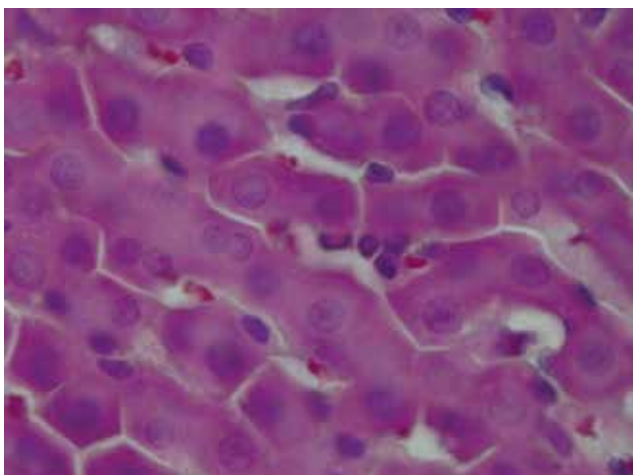


Рис. 5. Печень крысы при перитоните и АНОГ. Расширение синусоидов, нейтрофилы в центре кадра, активированные Купферовские клетки размером ядер лишь немного уступают гепатоцитам. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. микроскопа x1000.

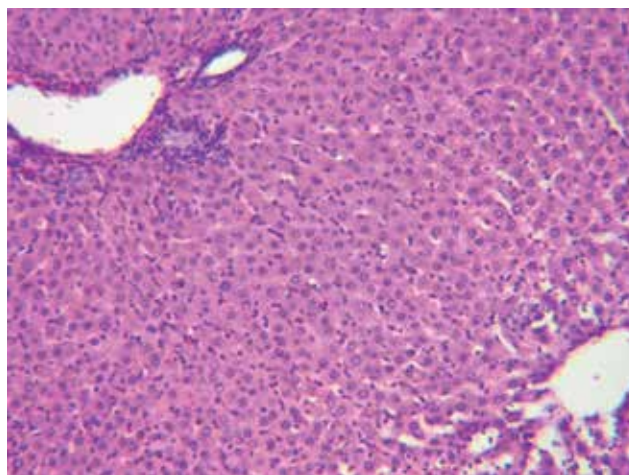


Рис. 6. Печень крысы при перитоните и АНОГ. Видна вся долька от портальных трактов до печеночной вены. Паренхима печени имеет нормальный вид. Расширение синусоидов заметно только при их приближении к центральной вене. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. микроскопа x200.

вали гематоксилин-эозином (Biovitrum) и толуидиновым синим по стандартной методике. Просматривали в световом микроскопе фирмы Olympus (Япония), изображения регистрировали фотокамерой Color View II с программой компьютерного анализа Cell F.

Результаты и их обсуждение

Морфологические изменения в печени

Изменения, вызванные АНОГ, были сравнительно небольшими и касались, главным образом, циркуляции. Наблюдали два варианта умеренного расширения синусоидов. Это было либо равномерное, одинаково выраженное по всему объему дольки увеличение просвета синусоидов (рис. 1), либо просвет увеличивался только по мере приближения синусоидов к центральной вене (рис. 2), а в средней и перипортальной частях дольки размер синусоидов не отличался от такового

в виварийном контроле. Оба варианта застоя можно было наблюдать в одном органе.

Иногда в участках наиболее выраженного застоя – центрилобулярных зонах встречались эритроциты.

Развитие перитонита сопровождалось значительно более выраженным, чем при АНОГ, расширением синусоидов, появлением в них и в центральной вене эритроцитов (рис. 3, 4). Расширение синусоидов было столь резким, что диаметры синусоидов и печеночных балок сравнивались (рис. 4). Развивалась крупнокапельная вакуолярная дистрофия гепатоцитов (рис. 3).

АНОГ в сочетании с перитонитом также характеризовалась нарушением циркуляции вдоль печеночных балок. В синусоидах обнаруживались нейтрофилы (рис. 5), что указывало на становление воспалительного процесса. Но, если считать расширение синусоидов и центральных вен главным микроскопическим при-

знаком нарушения циркуляции в печени, то при развитии перитонита на фоне АНОГ этот признак был менее выражен, чем при перитоните без АНОГ (рис. 6). 14-суточная адаптация к АНОГ, несмотря на умеренные нарушения циркуляции в печени, позволяет организму успешнее противостоять дисциркуляторным нарушениям, вызванным перитонитом (рис. 4 и 5).

*Морфологические изменения
в поджелудочной железе*

Поджелудочная железа контрольных животных в нашем эксперименте в большинстве случаев имела нормальное строение. После 14 дней АНОГ поджелудочная железа в парафиновых срезах также имела нормальный вид. При анализе полутонких срезов явно заметным оказалось влияние АНОГ на динамику накопления и выделения ацинарными клетками зимогена. В железе интактных животных некоторое количество зимогена (будем считать его нормальным содержанием) находится в подавляющем большинстве экзокринных клеток. Редкое отсутствие зимогена в срезах нормальной поджелудочной железы, скорее всего, являлось следствием того, что в срез не попала апикальная часть ацинарной клетки. По данным А.А.Заварзина и А.В.Румянцева указывается, что ацинарные клетки всегда содержат зимоген [7]. Постоянным, видимым у всех животных и во всех срезах, признаком АНОГ было увеличение числа гранул зимогена (рис. 7).

Аналогичные изменения отмечены как при изучении влияния гипокинезии на пищеварение [11,12], так и при исследованиях поджелудочной железы крыс после длительного космического полета на биоспутнике «Космос-782» [8]. Авторы в ходе проведения синхронного эксперимента отмечали задержку фазы накопления секрета, которая выражалась в скоплении большого количества зрелых гранул зимогена в апикальных отделах ацинарных клеток; и фазы выделения секрета в центрoацинарные и межацинарные протоки. Отмечалось также торможение всех фаз секреторного

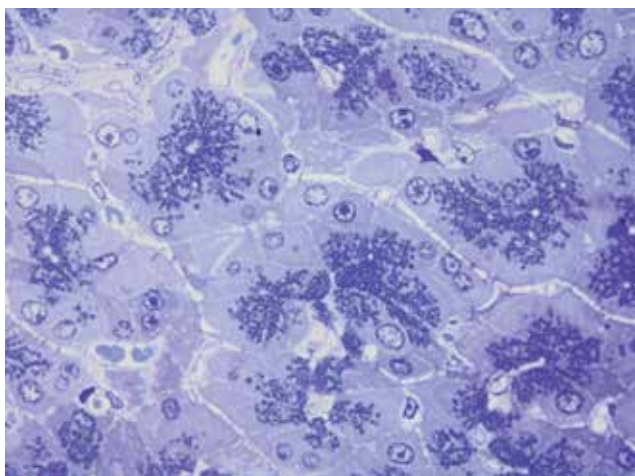


Рис. 7. Поджелудочная железа крысы при АНОГ. В ацинарных клетках увеличено содержание гранул зимогена. Междольковые пространства расширены. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим, Ув.микроскопа x1000.

цикла в ацинарных клетках поджелудочной железы в большей мере у животных полетной группы. В обоих случаях имело место нарушение производства и транспортировки пищеварительных ферментов.

При перитоните обнаруживали не отдельные клетки и даже не отдельные ацинусы, а обширные территории (включающие много ацинусов) с экзокринными клетками без гранул (рис. 8). На таких территориях гранулы обычного вида находились лишь во вставочных междольковых протоках. В некоторых клетках вместо гранул были видны скопления материала, не имеющего гранулярной формы, но по цвету соответствующего гранулам. Такой же материал располагался по окружности внутридольковых протоков, но не в просвете, а на клеточной стороне стенки протока. Описанные морфологические находки можно объяснить тем, что при перитоните нарушается синтез и нормальное структурное оформление зимогена. Ранее сформированные гранулы подвергаются внутриклеточному разрушению и образовавшийся детрит, как и нормальный зимоген, выделяется во внутридольковые протоки частично либо полностью. Такому объяснению соответствует отсутствие гранул в клетках, сосредоточение гиперхромного материала на наружной поверхности внутридольковых протоков и присутствие нормальных (видимо, образованных до развития патологии) гранул в просвете междольковых протоков. Описанные внутриклеточные изменения в формировании гранул профермента при перитоните сочетались с грубой деструкцией органа. Даже на фоне пестроты морфологических изменений у разных животных и в разных участках органа у одного животного вполне определенно выявлялась морфологическая особенность перитонита: очаги панкреонекроза. Они всегда были только очагами, не имели широкого распространения (рис. 9 А, Б).

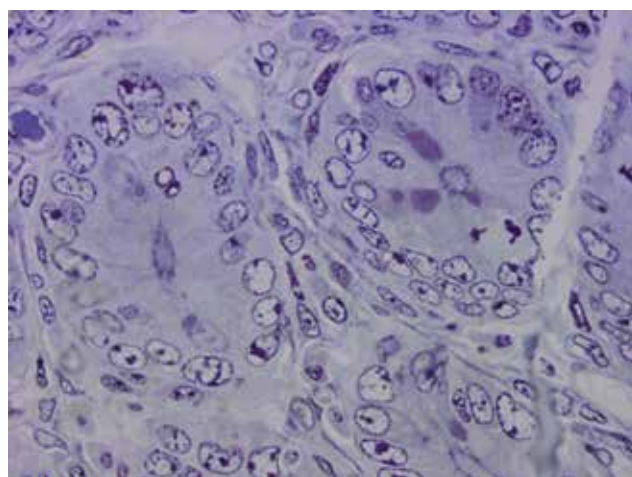


Рис. 8. Поджелудочная железа крысы при перитоните. Ацинарные клетки лишены гранул, которые встречаются только в междольковых протоках. На наружной стороне стенки внутридольковых протоков гиперхромный материал, скопления бесструктурного материала такого же цвета видны в некоторых ацинарных клетках. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим, Ув. микроскопа x1000.

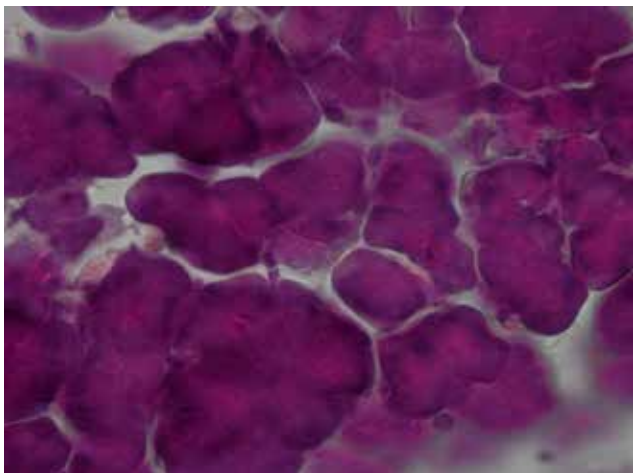


Рис. 9 А. Поджелудочная железа крысы при перитоните – участок панкреонекроза. Содержимое ацинусов гомогенно, зимоген неразличим. Едва заметны остатки ядер, это уже не ядра, а скопления гомогенизированного хроматина. Межацинарный отек. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. микроскопа x1000.

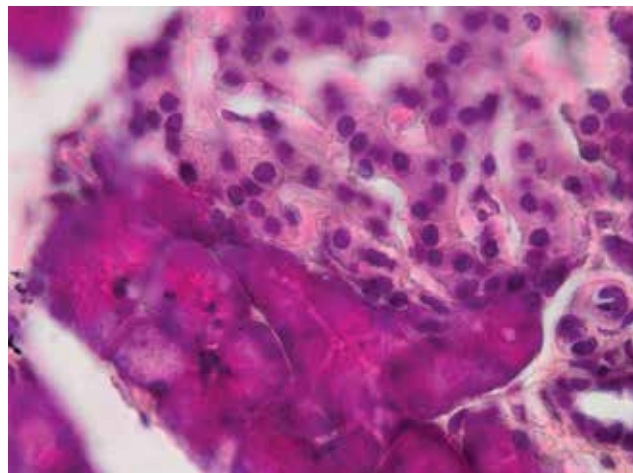


Рис. 10. Поджелудочная железа крысы при перитоните и АНОГ. На нижней границе снимка под островком Лангерганса, расположен участок панкреонекроза: ацинусы расплавлены, отечны, ядра не сохранились. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. микроскопа x1000.

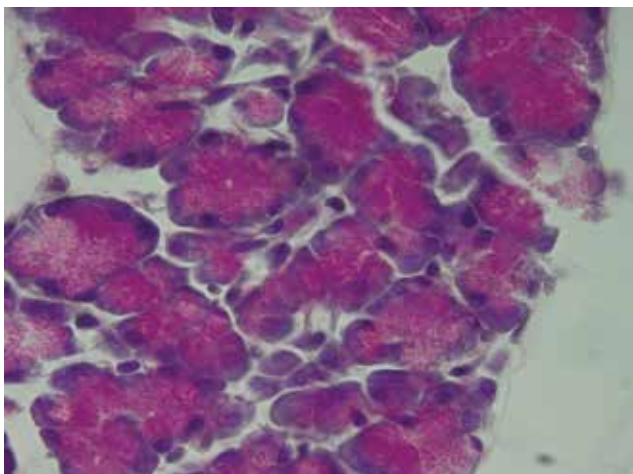


Рис. 9 Б. Поджелудочная железа крысы при перитоните – «благополучный» участок. Структура органа сохранена. Видны ядра и гранулы зимогена. Патология проявляется межацинарным отеком. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. микроскопа x1000.

Сочетание перитонита с АНОГ, с учетом очаговости деструктивных изменений и вариабельности проявлений патологии у отдельных животных, заметно ухудшало течение процесса. Встречались обширные зоны панкреонекроза, причем многократно их находили в непосредственном соседстве с сохранившимися островками Лангерганса (рис. 10). Вовлечения в некротическую зону островков не наблюдали.

Заключение

В результате проведенного эксперимента мы получили материал, подтверждающий предположение о

том, что АНОГ оказывает влияние на течение острого воспалительного процесса в брюшной полости. Однако, перераспределение жидких сред в краниальном направлении оказало неоднозначное влияние на развитие патологического процесса. Наиболее заметными морфологическими изменениями печени при АНОГ и перитоните были нарушения циркуляции – незначительные при АНОГ и грубые при перитоните. Морфологический анализ обнаружил, что в условиях микрогравитации деструктивные изменения, обусловленные перитонитом, в печени уменьшаются, а в поджелудочной железе увеличиваются. В поджелудочной железе обнаружены качественные морфологические различия сравниваемых групп, что позволяет судить о патогенетическом механизме с большей определенностью. АНОГ вызывает застой крови и избыточное накопление в клетках зимогена. Перитонит приводит к нарушению структурного оформления зимогена, который утрачивает гранулярное строение и уже не является органоидом, изолированным от других внутриклеточных структур, в частности, от лизосом, способных превратить зимоген в комплекс ферментов, в том числе, протеолитических и обусловить аутолиз ацинарных клеток. Сочетание АНОГ и перитонита приводит к тому, что обусловленный перитонитом аутолиз панкреоцитов усиливается высоким содержанием зимогена при АНОГ и реализуется в распространенный панкреонекроз. На участие ферментологической составляющей в механизме развития описанного панкреонекроза указывает хорошее сохранение эндокринной части органа – островков Лангерганса.

Список литературы

1. *Атьков О.Ю., Бедненко В.С.* Гипокинезия, невесомость: Клинические и физиологические аспекты. М.: Наука. 1989; 304.
2. *Блок Б.А., Зубарев А.В.* УЗИ внутренних органов. М.: МЕДпресс-информ. 2007; 256.
3. *Боголепов Н.Н.* Методы электронно-микроскопического исследования мозга. М.: Издание Института мозга АМН СССР. 1976; 72.
4. *Гончаров И.Б., Ковачевич И.В., Жернавков А.Ф.* Анализ заболеваемости в космическом полете. Космическая биология и медицина. М. 2001; 4: 145-164.
5. *Григорьев А.И., Гуровский Н.Н., Егоров А.Д.* Основные механизмы невесомости. Космическая биол. и медицина. М.: Наука. 1987; 49-59.
6. *Григорьев А.М., Егоров А.Д.* Феноменология и механизмы изменения основных функций организма человека в невесомости. Космич. биология и авиакосмич. медицина. 1988; 6: 4-17.
7. *Заварзин А.А., Румянцев А.В.* Курс гистологии. 6-е изд. М.: МЕДГИЗ. 1946; 723.
8. *Логинов А.С., Аруин Л.И., Бродский Р.А.* Морфологические изменения органов пищеварения при длительном космическом полете на биоспутнике «Космос-782». Арх. патологии. 1978; 40: 9: 39-47.
9. *Меркулов Г.А.* Курс патогистологической техники. Л.: Медицина. 1969.
10. *Поляков В.В., Смирнов К.В., Бедненко В.С.* Комплексная оценка функций желудочно-кишечного тракта во время космического полета. Материалы IX Всесоюз. конф. по космич. биологии и авиакосмич. медицине. Калуга. 1990; 161-162.
11. *Смирнов К.В., Уголев А.М.* Космическая гастроэнтерология. М.: Наука. 1981; 277.
12. *Смирнов К.В.* Пищеварение и гипокинезия. М.: Медицина. 1990; 224.
13. *Стручкова Т.Я., Щербакова Н.Г., Смирнов О.А.* Ультразвуковое исследование органов пищеварения при гипокинезии. XIV Всесоюз. конф. по физиологии пищеварения и всасывания: Тез. докл. Тернополь. Львов. 1986; 278-279.
14. *Fowler J.F.* Physiological changes during space flight. *Cutis*. 1991; 48: 291-295.
15. *Nicogossian M.C., Nicogossian A.E., Sawin C.F., Huntoon C.L., Pool S.L.* Overall physiologic response to space flight. *Space Physiology and Medicine*. 3rd ed. Philadelphia. Pa: Lea & Febiger. 1994; 213-228.
16. *Scott M. Smith, Jane M. Krauhs, Carolyn S. Leach.* Regulation of body fluid volume and electrolyte concentrations in spaceflight. *Advances in Space Biology and Medicine*. 1997; 6: 123-165.

Поступила 01.12.2011 г.

Информация об авторах

1. Астахов Дмитрий Анатольевич - младший научный сотрудник лаборатории физиологических проблем невесомости научно-исследовательского института общей патологии и патофизиологии РАМН; аспирант лаборатории минимально инвазивной хирургии Московского государственного медико-стоматологического университета; e-mail: astakhovd@mail.ru
2. Баранов Михаил Викторович – к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории физиологических проблем невесомости научно-исследовательского института общей патологии и патофизиологии РАМН; e-mail: labmicrogravity@rambler.ru
3. Панченков Дмитрий Николаевич – д.м.н., проф., зав. кафедрой хирургии ФПДО с лабораторией минимально инвазивной хирургии Московского государственного медико-стоматологического университета, e-mail: dnpanchenkov@mail.ru
4. Пальцын Александр Александрович – д.м.н., проф., зав. лабораторией регуляции репаративных процессов Научно-исследовательского института общей патологии и патофизиологии РАМН, e-mail: lrrp@mail.ru
5. Свиридкина Надежда Борисовна – к.б.н., зав. клиникой подопытных животных Научно-исследовательского института общей патологии и патофизиологии РАМН, e-mail: lrrp@mail.ru
6. Дубровин Иван Петрович – младший научный сотрудник лаборатории регуляции репаративных процессов Научно-исследовательского института общей патологии и патофизиологии РАМН, e-mail: lrrp@mail.ru
7. Комиссарова Светлана Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории регуляции репаративных процессов Научно-исследовательского института общей патологии и патофизиологии РАМН, e-mail: lrrp@mail.ru
8. Нечунаев Алексей Александрович – к.м.н., асс. кафедры хирургии ФПДО Московского государственного медико-стоматологического университета; e-mail: alex_nechunaev@mail.ru