

Macro- and microscopic structural changes of the stomach by the action of gravity overload and protection from it in the experiment

*G. R. Adjisaliev¹, A. P. Rostovschikov², A. Ya. Bekirov³

¹Department of Topographic Anatomy and Operative Surgery
S. I. Georgievsky Crimea State Medical University, Simferopol, Ukraine

²Department of Anesthesiology and Intensive Therapy, Territorial Medical Association of Simferopol District, Ukraine

*Corresponding author: guliver75@yandex.ru. Manuscript received February 28, 2014; accepted April 05, 2014

Abstract

Background: We studied changes in the stomachs of adult rats under long-term gravitational overload and under protection from it.

Material and methods: The research was performed on 24 adult Wistar rats. The first group was the control one. The second one was exposed to gravitational overloads. The third group consisted of the animals under physical protection. The fourth group included animals which were under combined protection. Organometric and morphometric analysis included research of main structural units of stomach.

Results: The second group had swollen loops of intestine. Serosa was dim. Vessels were dilated. Surface epithelium desquamated focally. The thickness of the gastric mucosa increased. The depth of the gastric pits was lesser. Chief cells were increased in their number. Many parietal cells were deformed, had vacuolated cytoplasm and hyperchromatic nuclei. Their number was at the reference value. The number of endocrine cells decreased. The third group had evenly inflated loops of intestine. Serosa was shiny. Mesenteric vessels somewhat expanded. The depth of the gastric pits was lesser. Chief cells had different shapes, seals and basophilic cytoplasm. The number of main and endocrine cells increased. All cells' parameters decreased. Thus studied stomach's parameters in fourth group changed a little and slightly. In this follow-up of the structure of stomach's fundic glands have been saved. The number of chief cells increased. The number of parietal cells changed insignificantly.

Conclusions: Long-term gravitational overloads cause considerable changes in the macroscopic picture, and organo-cytometric parameters in stomach of adult rats. The usage of the methods of protection negates the macro- and microscopic structural changes of the stomach caused by gravitational overloads. Changes in the studied parameters were less pronounced in case of the combined method.

Key words: morphometry, stomach, hypergravity, immersion method, Glutargin, microscopy.

Макро- и микроскопические структурные изменения желудка при действии гравитационных перегрузок и защите от них в эксперименте

Введение

Ускорение является первым физическим фактором, с которого начинается любой авиа- или космический полет [1, 2]. В информационных источниках имеется достаточное количество работ о влиянии гипергравитации на органы желудочно-кишечного тракта [3] однако, большинство из них посвящены физиологическим изменениям в указанных органах. В доступной литературе мы не встретили комплексных исследований морфометрических показателей желудка экспериментальных животных при действии гравитационных перегрузок и при защите от них, кроме тех, которые были проведены нами [4].

Цель: оценить возможные изменения макроскопической картины, органо- и цитометрических показателей желудка половозрелых крыс в результате воздействия значительного по величине, продолжительности и скорости нарастания-спада гравитационных перегрузок, а также при защите от них.

Материал и методы

Исследование проведено на 24 половозрелых крысах линии Вистар, которые были разделены на 4 группы (по 6 в каждой). В первую группу (контрольную) вошли животные, которые находились в стандартных условиях вивария [5]. Во вторую группу мы включили животных, подвергавшихся воздействию гравитационных перегрузок, которые создавали при помощи экспериментальной

центрифуги ЦЕ-2/500 с радиусом 0,5 м и рабочим диапазоном от 1 до 50 g. Направление действия гипергравитации – поперечное (бок в бок). Величина перегрузки составляла 9g, градиент нарастания – 1,4-1,6 g/c, спада – 0,6-0,8 g/c [6]. Время экспозиции составляло 10 минут. Перегрузки моделировали в виде трех временных промежутков длительностью 3 минуты каждый, с интервалом между ними в 30 сек. Эксперимент проводился ежедневно в одно и то же время в течение 30 дней.

В третью группу вошли животные, подвергавшиеся воздействию идентичных перегрузок, но находились в условиях предлагаемой нами физической защиты. За прототип физической защиты взят, так называемый, иммерсионный способ физической защиты биологических объектов при воздействии гравитационных перегрузок, который заключается в погружении животных в жидкую среду [7].

Четвертую группу составили животные, подвергавшиеся воздействию идентичных перегрузок и находящиеся в условиях физической защиты в сочетании с фармакологической коррекцией. Последнюю осуществляли препаратом «Глутаргин» отечественного производства (фармацевтическая компания «Здоровье», г. Харьков) в дозе 100 мг/кг парентерально, 1 раз в сутки в течение всего эксперимента. По химическому составу данный препарат является солью L-аргинина и глутаминовой кислоты, основным действием которого является улучшение

энергетического обмена клеток, оказывает антигипоксическое, антиоксидантное и мембраностабилизирующее действие [8].

Эксперимент на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях [9]. По истечении срока эксперимента (30 дней) животных умертвляли методом декапитации под эфирным наркозом. После вскрытия грудной и брюшной полостей осматривали органы желудочно-кишечного тракта снаружи. При этом, обращали внимание на цвет, степень вздутия желудка и петель кишечника, наличие субсерозных кровоизлияний.

Программа органометрии включала измерения длины желудка малой (Lm) и большой кривизной (Lб), расстояния между большой и малой кривизной (Lмб) на уровне впадения пищевода. Материал из фундальной части желудка фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Гистологические срезы выполняли предложенным нами способом [10]. Для проведения морфометрических исследований срезы окрашивали гематоксилином и эозином, или резорцин-фуксином с прокрашиванием ядер фуксинсернистой кислотой. Выявление аргирофильных эндокринных клеток проводили методом импрегнации серебром с метенамином серебра (по Гомори-Бартнеру).

Морфометрический анализ включал: измерения толщины слизистой оболочки желудка (СОЖ) и глубины желудочных ямок (ЖЯ), подсчет количества главных клеток (ГК) и париетальных (ПК) клеток на единицу фундальных желез (ФЖ) СОЖ, определение количества аргирофильных эндокринных клеток (АЭК) на единицу плоскости, равную $7,35 \times 10^{-8} \text{ м}^2$ в слизистой оболочке фундального отдела желудка, измерения площади сечения (S) и диаметра (D) главных и париетальных клеток, измерения площади (Sn) и диаметра (Dn) ядер ГК, ПК и АЭК. Морфометрический анализ микроструктур гистологических препаратов проводился в 6 полях зрения тестовой площади на аппаратно-программном комплексе, состоящем из микроскопа «Olympus»-CX31 с объективами Plan 10x/0,25, Plan 40x/0,65 и Plan 100x/1,25 Oil, цифровой видеокамеры «Olympus» C 5050 ZOOM и компьютера Celeron (R) с CPU 2,40 ГГц.

Вычисляли среднюю арифметическую X (или p при альтернативной изменчивости), стандартную ошибку средней арифметической Sx и критерия достоверности t для оценки достоверности различий между средними арифметическими (уровень достоверности $p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение

При макроскопическом исследовании органов ЖКТ половозрелых животных, подвергавшихся действию гипергравитации 30 дней, наблюдалась равномерная раздутость петель тонкой и толстой кишок. Серозная оболочка была тусклой, сосуды желудка и брыжейки – расширены. При этом показатели желудка менялись следующим об-

разом: Lm увеличилась на 13,06% ($p < 0,05$), Lв – на 6,29% ($p > 0,05$), а Lмв уменьшилась на 2,39% ($p > 0,05$) (рис. 1).

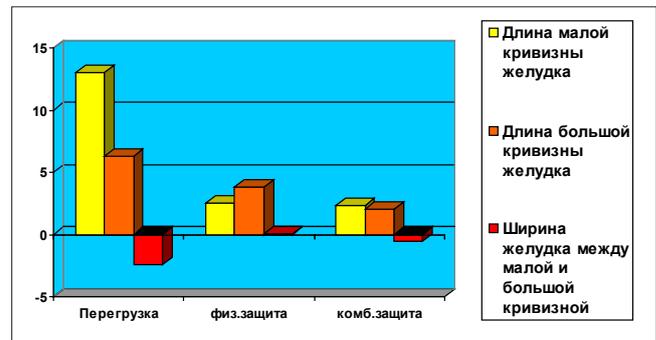


Рис. 1. Органометрические показатели желудка половозрелых крыс различных экспериментальных групп в сравнении с контролем (в %).

Поверхностный эпителий был частично десквамирован. Толщина СОЖ увеличилась до $520,05 \pm 8,02 \text{ мкм}$ по сравнению с $432,27 \pm 10,90 \text{ мкм}$ в контроле, что в процентном отношении составило 20,52% ($p < 0,05$). Глубина ЖЯ была меньше показателя контрольной группы животных на 11,89%. В СОЖ выявлялись железы с изменениями структуры, как ГК, так и ПК, при этом имела место деформация ГК. При идентификации главных glandулоцитов отмечено увеличение их количества на 5,8% ($p > 0,05$) до $33,52 \pm 1,61$ на единицу ФЖ ($p > 0,05$) (рис. 2), S их на 9,86% ($p > 0,05$) и D клеток – на 4,79% ($p > 0,05$), Sn – на 4,42% ($p > 0,05$), Dn – на 2,35% ($p > 0,05$) по сравнению с контролем. Многие ПК были деформированы, имели вакуолизированную цитоплазму и гиперхромные ядра. Количество их на единицу ФЖ была на уровне контрольного значения.

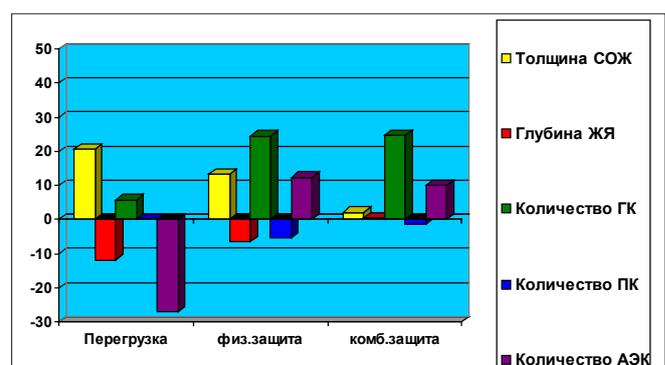


Рис. 2. Показатели СОЖ половозрелых крыс различных экспериментальных групп в сравнении с контролем (в %).

Морфометрия ПК показала увеличение S клеток на 15,88% до $164,63 \pm 4,83 \text{ мкм}^2$ ($p < 0,05$), D клеток – на 7,62% до $14,48 \pm 0,21 \text{ мкм}$ ($p < 0,05$), Sn – на 69,27% до $36,56 \pm 2,37 \text{ мкм}$ ($p < 0,05$), Dn – на 29,96% до $6,81 \pm 0,22 \text{ мкм}$ ($p < 0,05$). Количество АЭК на тестовую площадь равнялась $6,76 \pm 0,29$, что на 27,08% ($p < 0,05$) меньше, чем в контрольной группе. При этом все их показатели уменьшились по сравнению с контролем: S и D этих клеток на 20,61% ($p < 0,05$) и 10,75% ($p < 0,05$), составляя

24,33 ± 1,15 мкм² и 5,56 ± 0,13 мкм соответственно, а Sn и Dn – на 20,63% (p < 0,05) и 11,17% (p < 0,05), составляя 10,44 ± 0,96 мкм² и 3,63 ± 0,16 мкм соответственно (табл. 1).

При исследовании *ad oculus* органов ЖКТ половозрелых животных, которых подвергали воздействию гипергравитации в условиях физической защиты 30 дней, наблюдалась равномерная раздутость петель тонкой и толстой кишок. Серозная оболочка была блестящей, сосуды желудка и брыжейки кишки несколько расширены. При этом показатели желудка увеличились незначительно: Lm – на 0,60% (p > 0,05), Lv – на 1,27% (p > 0,05), Lmv – на 7,93% (p > 0,05) (рис. 1).

В этой группе животных структура ФЖ СОЖ была сохранена. Толщина СОЖ увеличилась до 489,39 ± 23,58 мкм по сравнению с 432,27 ± 10,90 мкм в контроле, что в процентном отношении составило 13,21% (p < 0,05) (рис. 2). Глубина ЖЯ была меньше показателя контрольной группы животных на 6,45% (p > 0,05). ГК имели различную форму, уплотненную и базофильную цитоплазму. Ядра их выглядели гиперхромными. Количество ГК составляло 39,44 ± 1,65 на единицу ФЖ, что превышало контрольные показатели на 24,49% (p < 0,05) (рис. 2). S их увеличилась на 19,39% (p < 0,05) и D клеток – на 9,18% (p < 0,05), Sn – на 2,93% (p > 0,05), Dn – на 1,71% (p > 0,05) по сравнению с контролем (табл. 1).

Таблица 1

Кариоцитометрические показатели клеток СОЖ половозрелых крыс различных экспериментальных групп в сравнении с контролем (в %)

Группа / Показатель	Перегрузка	Физическая защита	Комбинированная защита
Sn ГК	4,42	2,93	6,47
S ГК	9,86	19,39	36,77
Dn ГК	2,35	1,71	3,5
D ГК	4,79	9,18	16,78
Sn ПК	69,27	-13,26	-14,13
S ПК	15,88	9,59	6,67
Dn ПК	29,96	-6,9	-7,7
D ПК	7,62	4,62	3,26
Sn АЭК	-20,63	-20,73	-10,77
S АЭК	-20,61	-8,82	-7,74
Dn АЭК	-11,17	-11,25	-5,82
D АЭК	-10,75	-4,44	-3,91

Количество ПК составляло 22,37 ± 0,98 на ФЖ (рис. 2). S и D были равны 155,7 ± 6,31 мкм² и 14,07 ± 0,28 мкм соответственно, что было незначительно (p > 0,05) больше по сравнению с контрольными значениями. Sn и Dn составляли 18,74 ± 0,99 мкм² и 4,88 ± 0,13 мкм. Количество АЭК на тестовую площадь равнялось 10,42 ± 0,35, что на 12,42% (p > 0,05) больше, чем в контрольной группе (рис. 2). При этом все клеточные показатели уменьшились по сравнению с контролем: S и D этих клеток на 8,81%

(p < 0,05) и 4,44% (p < 0,05), составляя 27,94 ± 1,82 мкм² и 5,95 ± 0,19 мкм соответственно, а Sn и Dn – на 20,73% и 11,25%, составляя 10,43 ± 0,93 мкм² и 3,63 ± 0,16 мкм (табл. 1).

При исследовании *ad oculus* органов ЖКТ половозрелых животных, которых подвергали воздействию гипергравитации в условиях комбинированной защиты в течение 30 дней, макроскопическая картина мало отличалась от предыдущей группы. При этом изучаемые показатели желудка изменились незначительно и достоверно по сравнению с контрольными показателями. На этом сроке наблюдения структура ФЖ СОЖ была сохранена. Имело место сглаживание ЖЯ. Толщина СОЖ и глубина ЖЯ изменились недостоверно по сравнению с контрольными показателями (рис. 1).

Нижняя половина тела и дна желез состояла из ГК, среди которых довольно часто встречались двухядерные клетки. Среди ГК в небольшом количестве наблюдались и ПК, которые были расположены поодиночке или группами. Верхняя половина желез состояла из ПК. Они были меньше по размерам, чем ПК в области дна желез. Количество ГК равнялась 39,52 ± 1,85 на единицу ФЖ, что превышало контрольные показатели на 24,73% (p < 0,05) (рис. 2). S их увеличилась на 36,77% (p < 0,05) и D клеток на 16,78% (p < 0,05), Sn на 6,47% (p > 0,05), Dn – 3,50% (p > 0,05) по сравнению с контролем. Количество ПК изменилось недостоверно по сравнению с контролем, и составила 23,35 ± 1,08 на железу. Все исследуемые показатели ПК изменились незначительно и недостоверно (p > 0,05) по сравнению с контрольными значениями. Количество АЭК на тестовую площадь равнялась 10,19 ± 0,37, что на 9,94% (p > 0,05) больше, чем в контрольной группе. При этом все клеточные показатели уменьшились незначительно и недостоверно (p > 0,05) по сравнению с контрольными значениями (табл. 1).

Выводы

1. Длительные гравитационные перегрузки вызывают выраженные изменения макроскопической картины, органо- и цитометрических показателей желудка половозрелых крыс.
2. Используемые в эксперименте способы защиты нивелируют макро- и микроскопические структурные изменения желудка, вызываемые гравитационными перегрузками.
3. Изменения исследуемых показателей, менее выражены при использовании комбинированного способа по сравнению с физической защитой.

References

1. Vasilev PV, Kotovskaya AR. Dlitelnye lineynye i radialnye uskoreniya [Long-term line and radial acceleration]. *Osnovy kosmicheskoy biologii i meditsiny [Fundamentals of Space Biology and Medicine]*. 1975;1:177-231.
2. Khomenko MN, Vartbaronov RA, Buhtiyarov IV. Meditsinskoe obespechenie i psikhofiziologicheskaya podgotovka lyotchikov k polyotam na vysokomanevrennykh samolyotakh [Medical support and psychophysiological training of pilots to fly on highly maneuverable aircrafts].

- Voenno-meditsinskiy zhurnal [Military Medical Journal]*. 2000;10:56-61.
3. Smirnov KV, Ugolev AM. Kosmicheskaya gastroenterologiya. Trofologicheskie ocherki [The space gastroenterology. Trophological essays]. 1981;277.
 4. Pikalyuk VS, Adjisaliev GR. Morfometricheskie pokazateli zheludka polovozrelykh krysh pri vozdeystvii gravitatsionnykh peregruzok i pri zashhite ot nikh [Morphometric parameters adult rat's stomach under expose of gravitational overloads and protection from them]. *Morfologiya [Morphology]*. 2008;2(1):22-28.
 5. Kozhemyakin YuM, Khromov OS, Filonenko MA, et al. Naukovo-praktychny rekomendatsii z utrymannya laboratornykh tvaryn ta roboty z nymy [Scientific and practical recommendations for keeping of laboratory animals and working with them]. 2002;155.
 6. Ponomarenko VA. Mediko-psikhologicheskie problemy deyatelnosti lyotchika v vysokomanevrennom polyote [Medical and psychological problems of the pilot activities in highly maneuverable flight]. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina [Aerospace and Environmental Medicine]*. 2001;35(2):22-26.
 7. Adjisaliev GR. Statisticheskiy analiz vliyaniya gravitatsionnykh peregruzok i metodov ikh korrektsii na nekotorye pokazateli zheludka polovozrelykh krysh v eksperimente [Statistic analysis of the gravitational overloads' influence and methods of their correction on some indicators of the adult rats' stomach in the experiment.]. *Visnik morfologii [Reports of morphology]*. 2010;16(2):247-250.
 8. Babak OYa. Glutargin – farmakologicheskoe deystvie i klinicheskoe primenenie [Glutargin – pharmacological effects and clinical application]. 2005;455.
 9. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. 1986;52.
 10. Dyachenko OP, Adjisaliev GR, Chalbash DA. Sposib fiksatsii gistologichnykh blokiv dlya vygotovlennya bahatoploschynnykh zriziv mozochka [The method of histological blocks fixation for making of multiplanar cerebellum sections]. *Tavrycheskiy medyko-biologicheskii vestnik [Taurida medicobiological messenger]*. 2009;12(4-48):235-237.

The investigation of the influence of Propes on phenotypic and functional characteristics of human and animal immunocompetent cells

V. V. Zakharenko

Department of Oncopharmacology, Institute of Pharmacology and Toxicology
National Academy of Medical Sciences, Kiev, Ukraine

Corresponding author: mono2004@mail.ru. Manuscript received March 06, 2014, accepted April 05, 2014

Abstract

Background: The aim of the study is the investigation of the factors of innate immunity and formation of specific immune reactions in rats (antibody forming and formation of delayed hyperresponsivene reactions) after Propes (an extract of a bovine fetus liver) usage.

Material and methods: In the study we used CBA mice and white rats. Propes was used in dose 90 mg/kg subcutaneously for 10 days. On the 5th day after immunization by sheep erythrocytes in spleen of animals were evaluated antibody-forming cells using Jerne-Nordin technic, was haemagglutinin content, studied using simple haemagglutination technic in serum. Hyperresponsivene reactions were carried out using E. V. Gulling and M. B. Sambur method.

Results: It was found out that Propes doesn't exert an activity of factors innate immunity, doesn't decrease natural cell-mediated cytotoxicity against metabolically low-level target cells. Propes exerts immunomodulating activity towards regulatory and effector cells of immune system, increases T-killers/ helpers in mouse spleen, increases activity of NK-cells in mouse spleen and human blood. The drug suppresses primary humoral immune response on xenograft erythrocytes and immune hyperresponsiveness reactions. It has the influence on high proliferating systems and has immunomodulating properties, which depends on the time of administration and dosage regimen.

Conclusions: Immunomodulatory properties of Propes have ability to change the level of antigen differentiation of lymphoid organs and blood cells of experimental animals and humans, especially towards proliferative processes, regulates humoral and cell immune response. It doesn't exert the negative influence on cellular factors of innate immune response.

Key words: Propes, immune system, immunocompetent cells, phenotypic and functional characteristics.

Исследование влияния Пропеса на фенотипические и функциональные характеристики иммунокомпетентных клеток животных и человека

Введение

Учеными сформулировано представление о сравнительно новом классе информативных молекул – цитомединов, которые относятся к щелочным полипептидам, имеют молекулярную массу от 1000 до 10000 Д, обладают способностью индуцировать процессы специфической дифференцировки клеток. Применение цитомединов способствует восстановлению и сохранению регуляторных механизмов синтеза необходимых белковых

субстратов, что приводит к нормализации гомеостаза и повышению интенсивности защитных функций организма [1, 2].

Известно, что вещества природного происхождения оказывают цитостатический эффект за счет наличия в их составе малых активных молекул или непосредственно, влияя на иммунную систему, процессы воспаления, другие общие реакции организма [3-6].

Пропес – оригинальный препарат животного про-