

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ ИНСТИТУТ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

На правах рукописи

Баранов Михаил Викторович

**ОСОБЕННОСТИ ТИПОВЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ
МОДЕЛИРОВАНИИ ЭФФЕКТОВ МИКРОГРАВИТАЦИИ**

Специальность: 3.3.7 – «Авиационная, космическая и морская медицина»

Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант: доктор медицинских наук **В.В. Богомоллов**

Москва 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	7
1. ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	16
1.1 Патологические состояния и заболевания наиболее вероятные в условиях космического полета.....	16
1.1.1 Физиологические изменения в организме человека в невесомости, повышающие риск развития заболеваний в космическом полете	16
1.1.2 Факторы гермозамкнутых объектов, влияющие на повышение риска заболеваний.....	19
1.1.3 Ионизирующее излучение, как фактор риска развития патологических изменений в организме космонавта	29
1.1.4 Структура заболеваемости в условиях орбитальной космической станции.....	31
1.2 Основные типовые патологические процессы, патофизиологические механизмы и их звенья наиболее подверженные влиянию гравитационного фактора.....	41
1.2.1 Молекулярно-клеточный уровень.....	42
1.2.2 Тканевой уровень.....	46
1.2.3 Системный уровень.....	52
1.3 Рабочая гипотеза и обоснование направлений исследования.....	58
2. ГЛАВА 2. МЕТОДИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МАТЕРИАЛА.....	61
2.1 Модели микро- и гипогравитации у человека.....	61
2.1.1 Антиортостатическая гипокинезия.....	61
2.1.2 Ортостатическая гипокинезия.....	62
2.1.3 «Сухая» иммерсия.....	63
2.2 Методики исследования в экспериментах с участием испытуемых-добровольцев.....	64

2.2.1	Оценка порогов болевой чувствительности.....	64
2.2.2	Капилляроскопия ногтевого ложа.....	65
2.2.3	Анализ газового состава крови.....	66
2.2.4	Анализ состава тела и водного баланса по регионам, путем регистрации импедансной реографии.....	67
2.3	Модель микрогравитации у крыс.....	68
2.4	Методики исследования в экспериментах на крысах.....	70
2.4.1	Методика индукции перитонита у крыс.....	70
2.4.2	Методика формирования локальной ишемии головного мозга крысы.....	70
2.4.3	Методика формирования геморрагического некроза/травмы головного мозга крысы.....	72
2.4.4	Методика оценки когнитивных функций мозга крыс.....	73
2.4.5	Методика оценки двигательной активности крыс.....	75
2.4.6	Лабораторные методы исследования в экспериментах с крысами..	76
2.4.7	Методика формирования острого инфаркта миокарда у крыс.....	78
2.5	Биоэтические вопросы.....	78
2.6	Статистическая обработка данных.....	78
3.	ГЛАВА 3. ОСОБЕННОСТИ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭФФЕКТОВ МИКРОГРАВИТАЦИ.....	80
3.1	Болевая чувствительность в условиях моделирования микрогравитации у лабораторных животных.....	80
3.1.1	Протокол исследований.....	80
3.1.2	Результаты исследования.....	81
3.2	Болевая чувствительность в условиях моделирования микрогравитации у человека.....	85
3.2.1	Протокол исследования 1 экспериментальной серии.....	85
3.2.2	Результаты 1 экспериментальной серии.....	86
3.2.3	Протокол исследования 2 экспериментальной серии.....	89
3.2.4	Результаты 2 экспериментальной серии.....	89

4. ГЛАВА 4. ВОСПАЛЕНИЕ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭФФЕКТОВ МИКРОГРАВИТАЦИИ	95
4.1 Моделирование перитонита.....	95
4.2 Клинические проявления и анализ перитонеального экссудата.....	96
4.3 Биохимический анализ крови.....	101
4.4 Морфологические изменения.....	103
5. ГЛАВА 5. ОСОБЕННОСТИ ИШЕМИЧЕСКОГО И ГЕМОМРАГИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ (НЕКРОЗА) ГОЛОВНОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭФФЕКТОВ МИКРОГРАВИТАЦИИ.....	116
5.1 Ишемический некроз.....	116
5.1.1 Структурные и функциональные особенности префронтальной коры мозга крыс после АОВ (Эксперимент 1).....	117
5.1.2 Структурные и функциональные особенности префронтальной коры мозга крыс, перенёсших инсульт в условиях моделирования эффектов невесомости (Эксперимент 2).....	121
5.2 Геморрагический некроз.....	129
5.2.1 Структурные и функциональные особенности моторной зоны коры левого полушария мозга крыс (поле S1FL), перенёсших геморрагический некроз/травму в условиях моделирования эффектов невесомости.....	130
6. ГЛАВА 6. ОСОБЕННОСТИ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ И ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО ГАЗООБМЕНА ПРИ ГИПОВОЛЕМИИ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭФФЕКТОВ МИКРОГРАВИТАЦИИ.....	145
6.1 Результаты анализа водных секторов по методу импедансометрии.....	147
6.1.1 Изменения объемов жидкости в области нижних конечностей...	147
6.1.2 Изменения объемов жидкости в области головы.....	148
6.1.3 Изменения объемов жидкости в области верхних конечностей...	149
6.1.4 Изменения объемов жидкости в абдоминальной области.....	150
6.1.5 Изменения объемов жидкости в области грудной клетки.....	150
6.1.6 Изменения суммарных объемов жидкости.....	151

6.2 Результаты оценки состояния микроциркуляторного русла по данным капилляроскопии.....	153
6.2.1 Размер периваскулярной зоны (ПЗ).....	153
6.2.2 Диаметр артериального отдела (АО).....	154
6.2.3 Диаметр венозного отдела (ВО).....	155
6.3 Результаты оценки состояния периферического газообмена по уровню кислорода и углекислого газа в капиллярной и венозной крови в сосудах верхних и нижних конечностей.....	157
6.3.1 Парциальное напряжение кислорода в верхних и нижних конечностях (влияние АНОГ).....	158
6.3.2 Парциальное напряжение углекислого газа в верхних и нижних конечностях (влияние АНОГ).....	159
6.3.3 Парциальное напряжение кислорода в верхних и нижних конечностях (влияние диуретика).....	160
6.3.4 Парциальное напряжение углекислого газа в верхних и нижних конечностях (влияние диуретика).....	161
7. ГЛАВА 7. ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЭФФЕКТОВ МИКРОГРАВИТАЦИИ.....	165
7.1 Исследование особенностей функционирования сердца крысы в условиях АОВ.....	165
7.2 Отработка модели экспериментального инфаркта миокарда.....	178
7.2.1 Моделирование острого инфаркта миокарда на лабораторных животных методом коронарной окклюзии.....	178
7.2.2 Моделирование острого инфаркта миокарда на лабораторных животных методом введения изопротеренола.....	195
7.3 Исследование влияния эффектов моделированной микрогравитации на развитие инфаркта/ишемического повреждения миокарда непосредственно после вывешивания.....	206

7.4 Исследование влияния эффектов моделированной микрогравитации на развитие инфаркта/ишемического повреждения миокарда на значительных сроках после вывешивания.....	216
8. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	233
9. ВЫВОДЫ.....	244
10. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	246
11. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	250
12. Приложение.....	273

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Космическая медицина является сравнительно молодым направлением медицинской науки и начинает свой отсчет с конца 40-х годов прошлого века, с начала подготовки первого полета человека в космос. Являясь прикладной медицинской дисциплиной, призванной обеспечивать безопасность экипажей пилотируемых космических аппаратов, космическая медицина развивается параллельно с развитием космической техники и расширением программы освоения космического пространства.

Если в середине 20-го века продолжительность космических полетов составляла от нескольких часов до нескольких дней, то и объем медицинского сопровождения был соответствующим: регистрация частоты дыхания, ЭКГ и артериального давления, термометрия, сообщения о самочувствии.

В настоящее время, объем медицинских данных, получаемых у космонавтов в пред- и послеполетный период, на борту МКС (а раньше на борту станции «Мир»), существенно возрос и включает в себя помимо электрофизиологических параметров целый комплекс диагностических и лабораторных методов. Однако, как и раньше, основной упор делается на профилактическую медицину. Ее задачей является отбор к участию в полете абсолютно здоровых людей и поддержание высокого уровня их здоровья и работоспособности на орбите за счет широкого комплекса мероприятий, направленных на профилактику неблагоприятного действия на человека факторов космического полета.

При анализе возрастного состава действующего отряда космонавтов мы определили, что средний возраст ныне летающих космонавтов составляет около 45 лет. Причина этого простая: развитие космической техники, усложнение научной программы полетов, сложности технического обслуживания станции требуют довольно длительных сроков подготовки космонавтов к полетам. Сложность, длительность и, соответственно, повышение стоимости подготовки приводит к тому, что все заинтересованы в максимально большой продолжительности летной службы космонавтов. А к возрасту в 50 лет у большинства участников космических

полетов появляются те или иные отклонения в состоянии здоровья. Несмотря на отсутствие официальных данных, известно, что достаточно большой процент космонавтов на орбите принимают различные фармакологические препараты. К сожалению, ни систематических исследований в этом направлении не ведется, ни информация в полной мере не собирается. Космонавты не склонны сообщать о приеме лекарственных препаратов, так как опасаются углубленных обследований, по результатам которых они могут быть списаны с летной работы.

Тем не менее, среди участников космических миссий процент космонавтов с парциальной недостаточностью здоровья неуклонно увеличивается.

Это является первой причиной для того, чтобы отойти от использования в системе медицинского обеспечения космических полетов принципов профилактической медицины как единственно возможных.

Необходимо переходить к активному изучению в условиях космического полета основ возникновения и развития патологических процессов.

Основанием для этого, помимо вышеописанной ситуации с действующим отрядом космонавтов, является переход к перспективным миссиям за пределами низкой околоземной орбиты. Разработка системы медицинского обеспечения космических полетов на Луну, в точку Лагранжа, на Марс потребует не только знаний о влиянии на организм человека неблагоприятных факторов, сопутствующих этим миссиям, но и понимания закономерностей развития основных патологических процессов в этих условиях. Высокий уровень автономности экипажа, присущий полетам за пределы околоземной орбиты потребует более серьезной проработки системы диагностики и лечения заболеваний в условиях пилотируемого корабля.

Медицинские данные, полученные за все годы пилотируемой космонавтики, свидетельствуют о том, что условия космического полета влияют практически на все системы, органы и ткани в организме человека.

До последнего времени эти изменения было принято рассматривать как приспособление организма к новым условиям среды обитания. Однако, многие изменения, являясь адаптационными по своей сути, могут приводить к

существенному снижению функциональных резервов той или иной системы органов и тканей. Так в системе кровообращения воздействие микрогравитации выражается в значительном уменьшении объема циркулирующей крови (ОЦК). За время полета у космонавтов снижение ОЦК составляло от 10 до 23% [1,2], а ударный объем сердца снижался от 10 до 20% [3]. При возникновении на орбите заболевания или травмы, требующих возмещение потерь жидкости или крови, их тяжесть может существенно увеличиваться, гиповолемический/геморрагический шок усугубляться, а потребность в объемах инфузионно-трансфузионной терапии увеличиваться.

В условиях космического полета снижается качество иммунного ответа [4,5,6]. В первую очередь, это выражается в функциональной активности лимфоцитов. Способность обнаруживать и вступать во взаимодействие с клетками-мишенями у Т-киллеров угнетается после полетов различной продолжительности, уменьшается интегральная цитотоксическая активность. Всё это может повышать риск развития вирусных и бактериальных заболеваний непосредственно на орбите и в послеполетном периоде. Этот же фактор может повышать риск развития онкологической патологии.

В экспериментах по изучению репаративных процессов в невесомости, американские исследователи выяснили, что хирургические разрезы брюшной стенки у крыс, сопровождаются более выраженным воспалением, фиброплазией и изменённым пространственным расположением волокон коллагена. Возможным объяснением данных морфологического и тензометрического анализа, являются нарушения в образовании сгустков фибрина. Кроме того, дезориентация волокон коллагена может способствовать как изменению скорости поступления в воспалённый участок иммунных клеток, так и избыточному их там пребывания [7,8].

Описанные выше и целый ряд других изменений, происходящих в организме космонавта под влиянием факторов космического полета и, в первую очередь, невесомости указывают на то, что привычные патологические состояния в условиях космического полета могут иметь довольно значительные особенности.

Таким образом, увеличение среднего возраста участников космических полетов, продолжение летной работы космонавтов с парциальной недостаточностью в состоянии здоровья свидетельствует об актуальности исследования патологических процессов в условиях невесомости. Отдельные данные указывают на то, что патогенез практически всех возможных заболеваний в условиях космического полета будет существенно отличаться от патогенеза аналогичных заболеваний на Земле.

Степень разработанности проблемы

До последнего времени ни в России, ни за рубежом систематических исследований патологических процессов в условиях микрогравитации не проводили.

Все имеющиеся в распоряжении ученых факты явились результатом сбора данных в системе медицинского контроля космических полетов.

В ходе медицинского обеспечения пилотируемых полетов, медики регистрировали все медицинские случаи и оказывали консультативную помощь космонавтам и астронавтам в лечении того или иного функционального или соматического нарушения.

Обобщенный анализ заболеваемости космонавтов и астронавтов до 1982 года проведен И.П. Неумывакиным [9], а более поздние данные представлены специалистами ГНЦ РФ ИМБП РАН и ЦПК им. Ю.А. Гагарина [10].

Однако, исследований этиологии, патогенеза и особенностей развития даже зарегистрированных патологических состояний у космонавтов не проводили.

Механизмы развития патологических процессов в ряде случаев изучали на моделях заболеваний у животных, в условиях моделирования факторов космического полета.

На настоящем этапе развития космической медицины, как нам представляется, наиболее эффективным путем изучения и прогнозирования особенностей патологических процессов в космосе является комплексное исследование физиологических механизмов действия отдельных факторов космического полета на организм человека и моделируемых патологических

процессов на фоне действия этих факторов. Основным фактором, вызывающим сдвиги в физиологических функциях организма при полетах человека в космическое пространство, безусловно, является невесомость (микрогравитация), поэтому наши исследования и были посвящены влиянию моделируемых эффектов микрогравитации на формирование особенностей моделируемой патологии. Общепринятой моделью микрогравитации является антиортостатическое положение (АНОП) тела исследуемого или обследуемого объекта.

Цель и задачи

Целью настоящей работы явилось изучение механизмов влияния эффектов микрогравитации на патогенетические звенья наиболее вероятных в условиях космического полета заболеваний и оценка роли гравитационного фактора в особенностях типовых патологических процессов.

Основные задачи исследования:

1. Изучить механизм влияния антиортостатического положения (АНОП) на болевую чувствительность у человека и экспериментальных животных.
2. Оценить характер течения инфекционного воспаления в условиях антиортостатического вывешивания (АОВ) у экспериментальных животных (на примере экспериментального перитонита).
3. Изучить особенности ишемического и травматического повреждения головного мозга и регенеративных процессов у экспериментальных животных в условиях АОВ.
4. Исследовать состояние периферической гемодинамики при моделировании эффектов микрогравитации на фоне дополнительных потерь жидкости.
5. Определить влияние перераспределения жидких сред в краниальном направлении на состояние периферического газообмена.
6. Выявить особенности ишемического повреждения сердца в условиях моделированной микрогравитации у экспериментальных животных.

Научная новизна

Впервые проведено исследование влияния на болевую чувствительность гипокинезии с различным по направлению вектором гравитации у человека и экспериментальных животных. Установлено достоверное влияние моделированной микрогравитации на суточную динамику болевой чувствительности у человека. Получены данные о роли перераспределения жидких сред в краниальном направлении в восприятии болевых импульсов, при этом изменялась и суточная динамика концентрации кортизола - гормона стресса, отвечающего за болевую чувствительность.

В модельных экспериментах с участием человека получены новые данные о состоянии периферического газообмена у человека в условиях антиортостатической гипокинезии на фоне дополнительных потерь жидкости.

Впервые исследованы особенности патогенеза повреждения головного мозга различной этиологии в условиях моделирования эффектов микрогравитации у экспериментальных животных.

В экспериментах с крысами получены новые данные о структурных и функциональных изменениях в работе сердца в условиях моделирования эффектов микрогравитации и особенностях развития экспериментального инфаркта миокарда в условиях антиортостатического положения животных.

Разработаны комплексные модели воспалительных процессов брюшной полости и забрюшинного пространства у крыс на фоне моделирования эффектов воздействия микрогравитации.

Впервые получены данные по особенностям патогенеза воспалительных заболеваний применительно к условиям пилотируемых космических полетов.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты диссертационной работы раскрывают механизмы влияния микрогравитации на патогенез и особенности развития типовых патологических процессов.

Результаты выполненных исследований имеют практическое значение для космической медицины: разработки и усовершенствования систем медицинского

обеспечения длительных орбитальных полетов и экспедиций за пределы околоземной орбиты.

Разработанные экспериментальные модели комплексного изучения отдельных патологических процессов на фоне действия факторов космического полета позволят в дальнейшем проводить углубленные исследования различных нозологий, разрабатывать принципы и схемы лечебных мероприятий с учетом возможных заболеваний при осуществлении перспективных космических миссий.

Положения выносимые на защиту

1. Микрогравитация оказывает существенное влияние на патогенез и исходы типовых патологических процессов в организме человека и животных в условиях космического полета.
2. Ключевым механизмом влияния микрогравитации на патологические процессы является перераспределение жидких сред в организме в краниальном направлении, сопровождающееся изменениями регионального кровообращения.
3. Изменения патогенеза реализуются в особенностях клинических проявлений типовых патологических процессов, свидетельствующих о возможно более тяжёлом течении отдельных заболеваний в условиях невесомости.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Личный вклад автора заключается в формировании научной концепции исследования, формулировке цели и задач данной работы, планировании и подготовке экспериментов. При проведении экспериментальных работ с участием испытуемых-добровольцев автором разработан и запатентован новый способ моделирования условий на поверхности планет с пониженным уровнем гравитации. Такие методики исследования как определение болевой чувствительности, капилляроскопия, анализ водных секторов и анализ газового состава крови выполнялись непосредственно автором от сбора первичных данных до обработки полученных результатов. В экспериментах на животных автор принимал непосредственное участие в разработке дизайна исследований,

определении целей и задач, а также в проведении антиортостатического вывешивания животных, обработке и интерпретации полученных результатов. Морфологические исследования в экспериментах на лабораторных животных выполнялись автором совместно с сотрудниками лабораторий проф. Карганова М.Ю. и проф. Пальцына А.А. ФГБНУ НИИОПП. Часть вошедших в диссертацию данных получена в соавторстве с другими исследователями, вклад которых отражен в публикациях по теме диссертации. Статистический анализ полученных данных, интерпретация результатов, подготовка текста диссертационной работы, а также формулировка заключения и выводов проведены непосредственно автором.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием автором современных методов исследования и статистического анализа полученных данных. Исследование выполнено с одобрения и под контролем комиссий по биомедицинской этике ГНЦ РФ ИМБП РАН, ФГБНУ НИИ ОПП и ФГБУ ФНКЦ ФМБА России.

Апробация результатов исследования

Результаты работы были представлены автором на российских и международных конференциях: Международный астронавтический конгресс (IAC-2010), Прага 2010, 34-й Международный симпозиум по гравитационной биологии (ISGP-2013), Кёльн 2013, 36-й Международный симпозиум по гравитационной физиологии (ISGP-2015), Любляна 2015, 37-й Международный симпозиум по гравитационной физиологии (ISGP-2016), Тулуза 2016, 38-й Международный симпозиум по гравитационной физиологии (ISGP-2017), Москва 2017, 39-й Международный симпозиум по гравитационной физиологии (ISGP-2018), Амстердам 2018, Международный астронавтический конгресс (IAC-2018), Бремен 2018, 18-я Международная конференция по космической биологии и авиакосмической медицине «Земля-Орбита-Дальний космос», Москва 2023.

Диссертационная работа апробирована на секции «Космическая медицина» Учёного совета ФГБУН ГНЦ РФ – Института медико-биологических проблем Российской академии наук (протокол № 7 от 21.12.2023)

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертационной работы опубликовано 26 статей в отечественных и зарубежных журналах из перечня изданий рекомендованных ВАК РФ для защиты диссертаций.

Структура и объём диссертации

Диссертационная работа построена по классическому принципу и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, методические вопросы исследований и характеристика экспериментального материала, 5 глав с результатами собственных исследований, заключение, выводы, список сокращений, список литературы и приложение. Диссертация изложена на 274 страницах машинописного текста, иллюстрирована 112 рисунками, содержит 24 таблицы. В список литературы включено 210 источников, из них 101 отечественных и 109 зарубежных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Патологические состояния и заболевания наиболее вероятные в условиях космического полета

1.1.1 Физиологические изменения в организме человека в невесомости, повышающие риск развития заболеваний в космическом полете.

Невесомость - важнейший фактор космического полета, с которым мы не сталкиваемся в обычных условиях жизнедеятельности. Ключевыми механизмами влияния микрогравитации на организм человека являются устранение деформации структурных образований тела, в обычных условиях, вызываемых силой тяжести, уменьшение весовой нагрузки на костно-мышечную систему, изменения в функционировании афферентных проводящих путей, а также перераспределение жидких сред в направлении головы. Эти изменения запускают многочисленные ответные реакции, вызывающие адаптационные перестройки в различных системах органов, способные вывести организм из устойчивого состояния [11,12,13].

Основным проявлением начального периода адаптации к микрогравитации является космическая форма болезни движения. Она сопровождается двигательными и вегетативными нарушениями различной степени выраженности примерно у 50% членов экипажей космических миссий. Этому сопутствуют сенсорные нарушения, иллюзии падения, вращения и переворотов тела, пространственная дезориентация и координаторные нарушения [11,14,15,16]. Как правило, эта симптоматика полностью регрессирует в течение короткого времени и на более поздних стадиях полета не проявляется. Исключение составляет этап посадки, когда вегетативные нарушения могут проявляться снова, но он скорее связан с механизмами реадaptации вестибулярной системы к земной силе тяжести.

Перемещение жидких сред организма в верхнюю половину туловища вызывает рост гидростатического давления в кровеносных сосудах, сопровождающийся отёчностью тканей головы и шеи. Субъективно это проявляется ощущениями заложенности носа, прилива крови к голове и одутловатостью лица [11,12]. Также, как и

симптомы космической формы болезни движения, эти проявления исчезают с реализацией адаптационных перестроек в сердечно-сосудистой системе, водно-электролитном балансе и физиологическом сбросе жидкости.

Сердечно-сосудистая система, в целом, является одной из наиболее подверженных воздействию микрогравитации. Адаптационные перестройки в ней вызывают уменьшение сначала объема плазмы, а позже, и объема циркулирующей крови, разнонаправленные изменения сосудистого тонуса выше и ниже гидростатически индифферентной точки, увеличение частоты сердечных сокращений, а в некоторых наблюдениях, уменьшением абсолютных значений ударного объема левого желудочка сердца и артериального давления [11,17]. В условиях длительного космического полета наблюдается развитие ряда закономерных изменений показателей гемодинамики и фазовой структуры сердечного цикла – тенденция к достаточно устойчивому увеличению ЧСС [18].

В условиях космического полета и в послеполетном периоде у космонавтов часто наблюдаются изменения ЭКГ различного характера, особенно конечной части желудочкового комплекса [19], что рассматривается как показатель изменений функционального состояния миокарда. Изменения ЭКГ, свидетельствующие о метаболических сдвигах в миокарде, в условиях космического полета и в послеполетном периоде, часто проявляется в виде аритмий или изменений зубца Т и ST-сегмента [20].

Предполагается, что изменения амплитудных и временных характеристик зубца Р связаны с продолжительной нагрузкой объемом правых отделов сердца во время антиортостаза на фоне изменений уровня активности симпатической нервной системы, а изменения комплекса QRS, по-видимому, отражают имевшее место повышение рабочей нагрузки на левые отделы сердца, обусловленное увеличением периферического сосудистого сопротивления. Именно первые минуты антиортостаза характеризуются увеличением общего периферического сопротивления, а затем наступает вазодилатация [21].

Обнаружено, что перераспределение центрального объема в условиях микрогравитации только временно увеличивает объемы сердца, и не всегда повышает центральное венозное давление.

На второй-четвертый день полета, эхокардиографическая оценка диастолического, систолического и ударного объема, показывает уменьшение этих показателей на 10%-20% ниже предполетной величины [22, 23].

Сформировавшийся под влиянием микрогравитации новый функциональный уровень системы кровообращения, а также изменения ее нейрогуморальной регуляции и сдвиги в процессах метаболизма могут быть потенциальными предпосылками функциональных и соматических нарушений кардиологического профиля. К ним можно отнести разнообразные нарушения сердечного ритма и проводимости, изменение конечной части желудочкового комплекса ЭКГ метаболического или коронарного генеза с соответствующей клинической симптоматикой, изменение в покое частоты сердечных сокращений и артериального давления. Хронический стресс, вызванный постоянным психоэмоциональным напряжением, перестройка электролитного баланса с развитием дефицита калия приводят к тому, что наиболее вероятными в этой группе нарушениями становятся нарушения сердечного ритма и изменения конечной части желудочкового комплекса на ЭКГ, обусловленные перестройкой тканевого метаболизма. Адаптационная перестройка в центральной нервной системе, под влиянием факторов космического полета может способствовать появлению вегетативных нарушений и астено-невротического синдрома [15].

Изменения в системе иммунитета и обмена веществ в длительных космических миссиях могут выступать не только неблагоприятным фоном для развития иммунной патологии, но и дополнительным провоцирующим моментом для развития острых воспалительных заболеваний, функциональных и структурных нарушений в других системах организма [24, 15, 25].

Отрицательный кальциевый баланс, потери кальция костной тканью с избыточным выведением его мочевыделительной системой могут не только существенно повышать риск переломов и других травматических повреждений,

но и способствовать повышенному камнеобразованию с риском развития мочекаменной болезни. Кроме того, потери кальция могут негативно отражаться на состоянии зубной эмали с увеличением частоты стоматологических проблем [13, 26].

Таким образом, физиологические изменения, возникающие в организме космонавта в ходе длительного пребывания в условиях микрогравитации могут осложняться целым рядом расстройств, как функционального, так и соматического характера. Наиболее вероятно их развитие в тех системах органов, которые были подвержены наибольшему влиянию со стороны факторов космического полета, а именно в сердечно-сосудистой и нервной системах, системе обмена веществ и опорно-двигательном аппарате, а также системе иммунитета. Учитывая отклонения в системе иммунитета высок риск развития воспалительных заболеваний различной этиологии, а также патология связанная с нарушениями обмена кальция.

1.1.2 Факторы гермозамкнутых объектов, влияющие на повышение риска заболеваний.

Помимо невесомости, к неблагоприятным факторам космического полета можно отнести **изоляцию** космонавта в герметично замкнутом пространстве. Одной из важнейших проблем, связанных с изоляцией, является действие психологических факторов. Их воздействие может оказывать многоплановое влияние на организм человека, находящегося в условиях космического полета. Как показал опыт орбитальных полетов, наличие национальных, культуральных, профессиональных и других различий может способствовать формированию психологических подгрупп, возникновению и развитию конфликтной напряженности между подгруппами, что в конечном итоге может сказаться на работоспособности и здоровье экипажа [27]. Изоляция продолжительностью более 150-200 суток является значительным медико-экологическим фактором риска эмоционально-поведенческой дестабилизации личности.

Длительная изоляция и среда обитания в гермозамкнутом объекте оказывают определенное воздействие на функциональное состояние различных систем организма. Выявленные изменения в органах и тканях, по-видимому, носят адаптационный характер. Так, на психоэмоциональном состоянии космонавтов могут сказаться интенсивная и нередко, монотонная или неоптимально спланированная профессиональная деятельность, вынужденное существование в условиях замкнутого гермообъема в составе малочисленной автономной группы людей, периодически возникающие стрессовые ситуации, сознание опасности, существующее при работе в космосе и т.д. [24]. В результате этого у космонавтов могут возникать: состояние утомления, раздражительность, эмоциональная лабильность, нарушение процессов сна, снижение работоспособности и мотивации к выполнению программы полета, возможно развитие так называемых соматогений, главным образом в виде вегетососудистых нарушений [28].

Неблагоприятный психоэмоциональный фон в изоляции может накладываться на функциональные изменения в других системах организма, повышая вероятность развития отдельных патологических состояний. Так погрешности в диете, изменения в регуляции деятельности пищеварительного тракта и отклонения в составе нормальной микробиоты на фоне психоэмоционального напряжения могут приводить к развитию гастрита и язвенной болезни желудка и 12-ти перстной кишки. Хронический стресс, зачастую сопутствующий изоляции в гермозамкнутом пространстве, может провоцировать нарушения в сердечно-сосудистой системе за счёт дисрегуляции вегетативного баланса, которые могут выражаться в гипертензивных сосудистых реакциях и аритмиях. Если этим процессам сопутствуют скрытые, не выявленные фоновые нарушения в работе этих систем органов, то риск появления патологии ещё больше возрастает [29]. Результаты исследований в модельных экспериментах показали, что длительное воздействие на организм факторов гермообъекта может вызывать нарушение обменных процессов в организме человека. В частности, наблюдалось изменение толерантности к глюкозе, характеризующееся замедленным восстановлением концентрации глюкозы после приема глюкозной нагрузки.

В некоторых случаях наблюдалось развитие гиперсекреторного состояния желудка, что может отражаться не только на работе пищеварительной системы, но и на состоянии углеводного обмена [30]. Дискинезия желчных путей, повышенная экскреция кальция из организма и нарушения обмена желчных кислот формируют условия для повышенного риска развития желчнокаменной болезни, а дисбактериоз и активация условно патогенной флоры могут провоцировать острый холецистит [31, 32].

Попытки прогнозировать медицинские проблемы, которые могут возникнуть у группы людей, находящихся в условиях изоляции, в частности, во время космического полета основаны на изучении "аналогичных" популяций, которые сходны с космическими экипажами по возрастному составу, медицинским требованиям, удаленности от людей и ограниченным возможностям медицинского обеспечения. Эти популяции состоят из военнослужащих, экипажей надводных кораблей, подводных лодок [33,34], а также отрядов научных работников, изучающих Арктику и Антарктику [35]. Данные по этим популяциям изучены и сопоставлены с медицинским риском, связанным с космическим полетом [36]. Случаи таких заболеваний, как сердечно-сосудистые или желудочно-кишечные, у представителей этой популяции бывают реже, чем у обычных людей, что можно было предвидеть, поскольку они подвергаются регулярным медицинским обследованиям и наблюдениям. Наибольшее число медицинских событий связано у них с профессиональным риском и работой в необычной окружающей среде. Один из расчетов медицинских событий применительно к станции, находящейся на околоземной орбите, был выполнен по данным, полученным на подводных лодках, в Антарктиде и в группе военных летчиков [37]. Согласно этим расчетам, незначительные медицинские проблемы, которые потребуют помощи медицинского специалиста, назначения лекарства, или же того и другого вместе, будут возникать с частотой от одного до трех случаев на человека в год. Частота случаев, которые потребуют госпитализации или постельного режима, колеблется от 3 до 6% на человека в год. А случаи эвакуации по медицинским

показаниям с отдаленных участков, где возможности оказания медицинской помощи ограничены, составляют, по этим расчетам, 1,6% на человека в год.

На основании этих исследований можно предположительно рассчитать вероятность возникновения общих медицинских проблем, но они не могут учесть специфический риск, связанный с условиями космического полета. К тому же, эти группы людей не совсем идентичны астронавтам и космонавтам, которые прошли тщательное обследование с целью выявления каких-либо медицинских нарушений и не имеют всем известных факторов риска для здоровья, таких как употребление табака или сидячая работа. С другой стороны, члены космических экипажей в процессе длительного полета могут быть намного старше лиц, входивших в контрольные группы.

Помимо психологического фактора в герметизированном объекте на человека воздействуют ряд неблагоприятных факторов среды обитания, которые могут также повышать риск развития патологических состояний.

К таким факторам относятся: уровень шума, изменения состава газовой среды, химические и биологические факторы.

Шумы и вибрация.

Источниками шума на космических объектах являются работающее экспериментальное оборудование, элементы системы жизнеобеспечения, переговорные устройства, аварийная сигнализация.

Контроль акустической обстановки на станции «Мир» показал, что в обитаемых отсеках уровень шума составлял в среднем 60-80 дБА. При 8-ми часовом рабочем дне это считается безопасным уровнем. Однако, необходимо принимать во внимание, что космонавты находились в этих условиях круглые сутки и на первое место выходил временной фактор. Для гигиенической оценки акустических характеристик рабочих мест использовали интегральный показатель звукового давления в речевом диапазоне, который на рабочих местах превышал предельно допустимый уровень от 0,5 до 11,2 дБ, а в местах отдыха от 1,9 до 13,3 дБ [38].

Измерения на МКС показали, что проблема повышенного уровня шума сохраняется. Максимальные превышения допустимых значений уровней звука в российском сегменте составили: на рабочих местах - 18,4 дБА, в переходных отсеках - 13,7 дБА, а в каютах – 19 дБА [39].

В первую очередь, негативное воздействие повышенного уровня шума сказывается на слуховом анализаторе и выражается во временном смещении порогового слуха (ВСП).

Клинические проявления ВСП носят индивидуальный характер, но чаще возникают при превышении общего уровня шума выше 75 дБА. С увеличением продолжительности шумового воздействия и его интенсивности вероятность ВСП повышается. В свою очередь, длительное воздействие даже умеренного по силе шума может вызывать дегенеративные изменения волосковых клеток внутреннего уха и приводить к постоянному смещению порогового слуха (ПСП) [40,41]. Особенно, это имеет значение при необратимой потере чувствительности к низким частотам, что может влиять на восприятие человеческой речи.

Помимо нарушений со стороны слухового анализатора, нельзя недооценивать и неакустические эффекты повышенного уровня шума. К ним можно отнести снижение работоспособности, нарушения сна, различные мало предсказуемые вегетативные проявления (отклонениям от нормы сердечного ритма, гипертензивная реакция сердечно-сосудистой системы). Также отмечены увеличение концентрации кортикостероидов и уровня глюкозы в крови, дисбаланс электролитного состава крови [42].

По сообщениям исследователей вибрации, возникающие при работе технологических установок, вентиляторов и систем жизнеобеспечения не достигают величин, при которых они оказывали бы негативное воздействие на организм космонавтов. Наибольшему воздействию вибрации организм космонавта подвергается на этапе старта и посадки, но ее кратковременный характер не позволяет оказать значимое влияние на структуру и функцию организма [43]. Эти данные подтверждают и исследования американских ученых по программе Gemini, когда было установлено, что вибрации на активных участках полета могут в

значительно большей степени затруднять операторскую деятельность и управление кораблем, чем наносить какой-либо вред здоровью астронавтов [44,45,46].

Изменение барометрического давления

Изменение барометрического давления в условиях пилотируемого космического полета, а именно выраженное и быстрое его снижение ведет к возникновению явлений дисбаризма [43,47]. При этом возникает клиническая симптоматика аэроотитов, баросинуситов, высотного метеоризма. Высокая скорость падения барометрического давления при разгерметизации космического корабля или скафандра чрезвычайно опасна развитием явлений взрывной декомпрессии. При этом страдают внутренние органы, содержащие газ, который быстро расширяясь, давит на стенки этих органов. Наиболее ранимыми в этом случае оказываются легкие и органы желудочно-кишечного тракта. Расширение желудка и кишечника, кроме жалоб на боль, может сопровождаться брадикардией, слабостью, обморочным состоянием, обусловленным вагусным эффектом. В критических случаях нарушения герметичности корабля, когда космонавт оказывается в условиях вакуума, взрывная декомпрессия сопровождается острой гипоксией, что приводит к летальному исходу. Движение воздуха при взрывной декомпрессии может быть настолько интенсивным, что возникающее при этом перемещение предметов с большой скоростью может сопровождаться тяжелыми травматическими повреждениями космонавтов [48].

Симптоматика, возникающая в организме космонавта при быстром снижении барометрического давления объединена понятием высотной декомпрессионной болезни. По своей клинической картине высотная декомпрессионная болезнь схожа с декомпрессионной болезнью водолазов, хотя и имеет определенные отличия. Главное из которых состоит во времени возникновения симптомов: если расстройства у водолазов возникают после завершения погружения, то при высотной декомпрессионной болезни симптомы наступают в ходе миссии. С наибольшей вероятностью в космическом полете это может происходить во время внекорабельной деятельности (ВКД). Помимо времени возникновения

симптомов высотную декомпрессию отличает более мягкое течение, с отсутствием тяжелых неврологических симптомов и для ее разрешения порой достаточно возвращения к привычному уровню атмосферного давления (давления орбитальной станции или космического корабля) [49].

Изменение газового состава среды

Эти изменения могут быть связаны с нарушениями или отказами в деятельности систем жизнеобеспечения космических объектов, нарушении герметичности корабля, появлении в атмосфере токсических газов (оксид углерода) и газообразных веществ (этиленгликоль) при возгораниях или авариях оборудования. В зависимости от вида нарушения газового состава атмосферы, меняется вид нарушений в организме космонавтов. Наиболее вероятным патологическим состоянием, связанным с изменениями газового состава атмосферы корабля является гипоксия, несмотря на повышенное содержание кислорода [50], поскольку для снижения поступления кислорода в ткани достаточно снижения давления в атмосфере станции в результате нарушения герметичности корпуса, ошибок при проведении ВКД или стыковки. Даже незначительная по уровню гипоксия может приводить к снижению когнитивных способностей [51], увеличению времени реакции [52], ухудшению качества сна [53]. Неполадки в системах регенерации воздуха являются потенциальными источниками накопления в обитаемых отсеках космического корабля диоксида углерода, содержание которого в этом случае может превысить предельно допустимые значения. Повышенная концентрация углекислого газа может вызывать симптомокомплекс, характеризующийся головными болями, ощущением «тяжести в голове», усилением сердцебиения и повышением частоты дыхания. Всё это приводит к существенному снижению работоспособности, а высокая концентрация диоксида углерода в атмосфере может вызывать угнетение центральной нервной системы до потери сознания и, в конечном итоге, при продолжении воздействия – смерти.

Помимо углекислого газа, в атмосфере космического корабля, при нарушениях в работе систем жизнеобеспечения могут накапливаться и другие

газообразные продукты связанные с жизнедеятельностью человека или нарушении герметичности технологических контуров оборудования. Такие продукты при превышении предельно допустимых концентраций могут вызывать токсические поражения [54, 55].

Повышение концентрации токсичных газообразных продуктов в искусственной атмосфере космического корабля может вызвать весьма вероятные отравления с соответствующей клинической картиной. Необходимо учитывать, что тяжесть возникающих поражений будет находиться в тесной связи с исходным состоянием организма человека, измененным под влиянием невесомости. Даже небольшие дозы токсических веществ могут вызвать клиническую картину отравления на фоне адаптационных изменений в организме человека в невесомости.

Изменение температуры и влажности

При нарушении функционирования систем терморегулирования космического корабля и скафандров возможно воздействие на человека как высоких, так и низких температур. Это показывает опыт работы экипажей на станции «Салют-7» или «Аполлон-13». Умеренное снижение температуры среды обитания особенно в сочетании с повышенной влажностью может вызвать у космонавтов дискомфортные явления общего и местного охлаждения с соответствующей субъективной симптоматикой.

Неприятные ощущения при этом могут быть достаточно выраженными, учитывая характерное в условиях космического полета ограничение мышечной активности и изменение регионарного кровообращения. Локальное охлаждение небольших участков кожной поверхности потоками воздуха работающих вентиляционных установок может привести к развитию у членов экипажа простудных заболеваний, воспалительных заболеваний мышц и периферической нервной системы.

Нарушения в работе системы терморегулирования скафандров при работах в условиях открытого космоса может приводить к перегреву организма космонавта.

Значительное и длительное повышение температуры в кабинах космических объектов может приводить к общему перегреванию организма, а нарушения техники безопасности при проведении технологических работ на станции, ремонте оборудования или СЖО, а так же при пожаре может приводить к возникновению ожогов различной степени.

Механические факторы

При выполнении различных работ с оборудованием, имеющим режущие поверхности или движущиеся части, при попадании в атмосферу космического корабля мелких обломков, частиц различных материалов, используемых в работе на станции, появляется риск получения различных мелких повреждений кожи и слизистых оболочек травматического характера. Такие незначительные в наземных условиях, с точки зрения травматизации, бытовые факторы как пыль и частицы пищи в условиях невесомости могут стать источником мелких повреждений слизистой глаз и верхних дыхательных путей.

Химические факторы

При некоторых аварийных ситуациях, связанных с образованием токсических продуктов при нарушении технологических процессов, а также при нарушении герметичности научно-производственных установок, содержащих агрессивные химические вещества, при проникновении внутрь обитаемых отсеков компонентов топлива и т.д. возможно развитие токсических поражений. Клиническая картина при этом будет зависеть от вида токсического агента и складываться из локальных симптомов на месте контакта с токсическим агентом (химические ожоги кожных покровов, слизистых оболочек и т.д.) и общего поражения организма с нарушениями деятельности центральной нервной и сердечно-сосудистой систем, развитием почечно-печеночной недостаточности.

В настоящее время, система разработки и производства пилотируемых космических модулей ориентирована на использование только безопасных и нетоксичных веществ и материалов при строительстве космических объектов. Однако, в перспективных миссиях, при строительстве сложных объектов за пределами Земли эти риски нельзя не учитывать.

Микробиологические факторы

К этой категории болезнетворных факторов следует отнести воздействие на организм космонавтов бактерий, грибов, простейших и вирусов.

Микробная среда пилотируемых космических объектов формируется за счет нескольких основных источников. В первую очередь, это аутомикрофлора членов экипажей, причем наряду с комменсалами в атмосферу станции выделяются и условно-патогенные микроорганизмы. Вторым источником является исходная микробиота конструкционных и отделочных материалов, оснащения и оборудования, заселяющая его на этапе производства. Наконец, микробная контаминация космических объектов происходит на этапах сборки, монтажных работ и в ходе предполетной подготовки. Помимо этого, внесение микрофлоры происходит при осуществлении грузопотока с Земли [56].

«В результате бортовых экспериментов, выполненных на МКС, в период работы 20 основных экспедиций и 11 экспедиций посещения из среды обитания было выделено и идентифицировано 80 видов микроорганизмов, среди которых присутствовали как условно-патогенные бактерии и грибы, так и организмы-технофилы, способные вызывать биоповреждения полимерных материалов и биокоррозию металлов» [56].

При длительном пребывании человека в герметичном объекте с ограниченным объёмом происходит изменение качественного состава микрофлоры помещения, с увеличением не только общего количества микроорганизмов, но и с повышением доли условно патогенных и патогенных микроорганизмов в общей микробиоте. Эта закономерность в полной мере реализуется в атмосфере космических кораблей и орбитальных станций [57]. Наряду с некоторым снижением иммунитета у космонавтов в условиях космических полетов, это является дополнительным фактором, повышающим вероятность развития инфекционных и воспалительных заболеваний в условиях длительных космических миссий.

Грибы, как дрожжевые, так и плесневые, выявляемые в атмосфере космических объектов могут приводить к аллергизации организма космонавта и, в

некоторых случаях, при существенном превышении допустимых концентраций, даже приводить к возникновению микотических интоксикаций.

1.1.3 Ионизирующее излучение, как фактор риска развития патологических изменений в организме космонавта.

Ионизирующее излучение, наряду с микрогравитацией является основным неблагоприятным фактором космического полета, способным не только повышать риск развития заболеваний, как в ходе космических миссий, так и после их завершения, но и самостоятельно вызывать патологические изменения в организме космонавтов.

Особенное значение этот фактор приобретает в период перехода к полетам за пределы низкой околоземной орбиты (Луна, Марс).

«Ионизирующее излучение является неоднородным и его эффекты зависят от вида и источника излучения. Первичными источниками ионизирующего космического излучения являются радиационные пояса Земли, галактические космические лучи (ГКЛ) и частицы, генерируемые солнечными вспышками, или солнечные космические лучи. Источники вторичной радиации, в основном представлены нейтронами, генерируемыми при прохождении первичной радиации через материалы космического корабля, ткани человека и верхние слои атмосферы» [58].

Биологические эффекты ионизирующего излучения могут быть связаны с непосредственной передачей энергии тканям организма с немедленным повреждением этих тканей, а могут быть реализованы через повреждение биологически значимых макромолекул, негативный эффект которых может быть как немедленным, так и отложенным.

С клинической точки зрения нарушения здоровья космонавтов в результате воздействия космической радиации также разделяют на острые и отдаленные эффекты. И если ранние эффекты проявляются в течение нескольких часов, дней или недель после острого облучения, то поздние или отдаленные эффекты развиваются спустя месяцы или годы.

При полетах по низкой околоземной орбите вероятность острого радиационного поражения (лучевой болезни) крайне мала. Однако, полеты за пределы геомагнитосферы к Луне и Марсу, существенно повышают этот риск. Например, если бы во время солнечной вспышки августа 1972 года в космосе находились космонавты, они бы получили дозу 0,5 Зв, что близко к уровню развития клинических проявлений лучевой болезни, а за пределами магнитосферы Земли лучевая болезнь развилась бы с высокой степенью вероятности [59].

Чувствительность систем организма к ионизирующему излучению зависит от композиции отдельных видов тканей. Ткани с высоким содержанием стволовых или активно делящихся клеток (костный мозг, эпителий желудочно-кишечного тракта) более чувствительны к воздействию радиации, чем ткани с высокодифференцированными клетками или ткани с преобладанием стромальных элементов (нервная ткань, хрящи, кости).

В сердечно-сосудистой системе наиболее восприимчивыми к воздействию радиации являются эндотелий артериол и мелких капилляров, причём в большей степени это касается отдалённых последствий.

В легочной ткани, в целом, достаточно устойчивой к воздействию радиации, острые эффекты проявляются в виде лучевого пневмонита, альвеолярной экссудации и лейкоцитарной инфильтрации через воздействие на небольшие кровеносные и лимфатические сосуды.

Желудочно-кишечный тракт, и его активно делящийся эпителий, являются одной из самых чувствительных систем к острому воздействию радиации. Поражение эпителия вызывает потерю жидкости и электролитов, диарею, а нарушение барьерной функции слизистой кишечника с распространением кишечной флоры, является одной из основных причин смертности от желудочно-кишечного синдрома при острой лучевой болезни [60].

И, наконец, самыми восприимчивыми к радиации являются клетки костного мозга. Радиационное повреждение клеток костного мозга является

наиболее значимым острым эффектом облучения, от которого, в конечном итоге зависит выживание организма.

Несмотря на то, что отсроченные эффекты ионизирующего излучения не влияют на риск возникновения заболеваний у космонавтов непосредственно в условиях космического полета, можно отметить, что одним из наиболее вероятных является повышенный риск развития онкологических заболеваний.

Из не онкологических отсроченных эффектов есть данные о влиянии ионизирующего излучения на сердечно-сосудистую систему. Пожизненное наблюдение за выжившими после использования ядерного оружия, указывает на повышенный риск развития артериальной гипертензии, инфаркта миокарда и инсульта, с увеличением риска на 14% на 1 зиверт [61].

Доказательств влияния меньших доз на сердечно-сосудистую систему человека нет, но эксперименты на мышах и крысах показали увеличение риска развития атеросклероза и эндотелиальной дисфункции [62,63].

1.1.4 Структура заболеваемости в условиях орбитальной космической станции.

Несмотря на существенные успехи в развитии профилактического подхода в космической медицине, основанного на строжайшем отборе и обширном комплексе профилактических мероприятий, призванных не допустить развитие заболевания на борту, полностью предотвратить возникновение патологических состояний и повреждений в космическом полете не представляется возможным. Это подтверждает и более чем 60-ти летний опыт медицинского обеспечения экипажей в ходе полетов [64-67].

К одним из наиболее часто встречающихся, можно отнести незначительные травмы кожных покровов. Чаще всего они происходили в ходе монтажа, ремонта или перемещения оборудования. Поскольку руки в условиях полета задействованы более активно, чем на Земле, большая часть травм приходится на верхние конечности. Также достаточно часто встречаются намины и потертости при выполнении космонавтами и астронавтами внекорабельной деятельности [68,69].

Несмотря на то, что значительных раневых повреждений у космонавтов отмечено не было, медицинскими специалистами NASA зафиксирован достаточно

высокий процент инфицирования поверхностных ран. В начальном периоде программы «Спейс Шатл» частота инфицирования поверхностных ран составляла 50% [70]. Кроме того, по некоторым данным заживление ран в условиях космического полета происходит дольше, чем на Земле. В экспериментах на животных после краткосрочного полета отмечено усиление воспаления в области раны, снижение скорости ангиогенеза и аномальное расположение коллагеновых волокон, что приводило к увеличению продолжительности заживления и ослаблению послеоперационного рубца [71-73].

Одной из распространенных жалоб астронавтов является боль в спине. При ретроспективном анализе медицинских данных программы Mercury американские ученые выяснили, что боли в спине в первые несколько дней пребывания на орбите отмечали 52% астронавтов, из которых 82% отмечали слабую выраженность болей, 11% среднюю и 3% тяжелую [74].

Как правило эти боли проходили в течение первых 10 дней пребывания в невесомости. Другим возможным механизмом развития болевых ощущений в спине и мышцах является синдром перетренированности связанный с физическими упражнениями на силовых тренажерах или во время внекорабельной деятельности, требующей длительного пребывания в неудобной позе.

Травмы опорно-двигательного аппарата (мышцы и связки) в условиях невесомости менее ожидаемы. Основным потенциальным источником травм могут быть физические упражнения на беговой дорожке или с использованием резистивного тренажера ARED.

Самой частой причиной использования анальгетиков экипажами американских челноков была головная боль. По данным американских исследователей в ходе 89 полетов с участием 508 астронавтов головная боль отмечена у 304 (69%) из 439 мужчин и 38 (55%) из 69 женщин [75]. В качестве причин головной боли на первом месте находится синдром адаптации к невесомости и космическая форма болезни движения. Кроме того, причиной может быть повышение концентрации двуокиси углерода в атмосфере станции [76].

К достаточно часто встречаемым проблемам можно отнести нарушения сна, которые встречались как у российских, так и у американских астронавтов [75,77].

Наряду с незначительными травмами кожных покровов, в условиях космического полета встречаются микротравмы глаз. Это связано с тем, что в невесомости в воздухе присутствует большое количество микрочастиц (пыль, мелкий мусор и т.п.), которые в обычных условиях оседают на поверхности. Кроме того, в последнее десятилетие как российские, так и зарубежные специалисты большое внимание уделяют нейро-окулярному синдрому (SANS), который выражается в снижении остроты зрения у астронавтов после длительного космического полета [78].

Нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта носили преходящий характер и проявлялись в диспепсических симптомах. Таких как вздутие живота, изжога и запоры. Тошнота и рвота, отмечаемые у некоторых космонавтов, чаще являются проявлением космической формы болезни движения, однако присоединение к ним лихорадки и диареи может свидетельствовать о кишечной инфекции. Вероятность ее возникновения невысока, в связи с карантинными мероприятиями перед стартом и, тем не менее, подобные случаи были.

В первые несколько суток полета нарушения со стороны респираторной системы представлены затрудненным носовым дыханием, связанным с перераспределением жидкости и отеком лица и слизистой носа. Они носят преходящий характер и строго говоря относятся не к патологическим, а к адаптационным проявлениям невесомости. А вот воспалительные процессы верхних дыхательных путей (фарингит, ларингит) отмечались в ходе полетов неоднократно, как у российских, так и американских астронавтов. Основной причиной вероятно выступает собственная микрофлора участников полета на фоне снижения иммунитета спровоцированного хроническим стрессом, повышенной рабочей нагрузки, нарушением сна и т.д. Однако и факт горизонтальной передачи инфекции от одного члена экипажа другому на орбите отмечен [79].

Наиболее вероятной патологией со стороны нижних дыхательных путей является аспирация мелких частиц, находящихся в атмосфере станции или

поражение легких токсическими соединениями (тетроксид азота, гидразин, аммиак, этиленгликоль, монооксид углерода и др.) при неисправности оборудования СЖО или пожаре [80].

Несмотря на тщательную предполетную подготовку и санацию ротовой полости в ходе космических полетов возникали проблемы с кариозными зубами, потребовавшие лечения на борту орбитальной станции [81,82].

Патология мочевыделительной системы в полетах была представлена инфекцией мочевыводящих путей и мочекаменной болезнью, что привело к досрочному возвращению экипажа на Землю [83]. Повышенный риск камнеобразования в условиях невесомости вероятно связан с деминерализацией костной ткани и повышенной экскреции кальция с мочой. По данным одного американского исследования у 12 астронавтов в течение нескольких месяцев после полета выявлены камни в почках [84].

Анализ электрокардиографических изменений астронавтов, работавших по программе "Аполлон", "Скайлэб", "Спейс Шатл", показал, что наиболее частым видом изменений были различные нарушения сердечного ритма, в том числе множественная или групповая экстрасистолия, а в одном случае был зарегистрирован 14-ти секундный эпизод бигеминии. У этого же астронавта через 2 года развился инфаркт миокарда [85].

Сходные нарушения сердечного ритма, преходящие изменения предсердно-желудочковой и внутрижелудочковой проводимости изменения электрокардиографических зубцов были отмечены и у советских космонавтов, совершавших полеты на кораблях "Восход", "Союз", орбитальной станции "Салют-5" [86].

При анализе данных электрокардиографических наблюдений за космонавтами, участвовавшими в полетах с 1964 по 1985 г. [87] среди всех изменений у 13 членов экипажа были выявлены различные виды экстрасистолии. Развитие этих нарушений ритма часто совпадало и, возможно, было связано с выраженным эмоциональным напряжением в период выведения космического корабля на орбиту и во время работ в условиях открытого космоса. Однако, во

многих случаях нарушения сердечного ритма регистрировались и в состоянии покоя, при плановом электрокардиографическом обследовании космонавтов. Отмечалось, что экстрасистолия в покое не вызывала развития субъективной симптоматики, не приводила к нарушению работоспособности космонавтов и носила функциональный характер.

Во время длительных полетов часто наблюдалось снижение амплитуды комплекса QRS и других зубцов ЭКГ. При этом умеренное снижение амплитуды зубца Т отчетливо выявлялось спустя примерно 2-3 мес после начала полета. Электрокардиографические исследования, выполненные у членов космических экспедиций на орбитальном комплексе "Салют-7"- "Союз-Т", выявили у некоторых космонавтов единичные редкие монотопные экстрасистолы, тенденцию к некоторому замедлению атриовентрикулярной проводимости, небольшое уменьшение амплитуды зубцов QRS и Т, причем в одном наблюдении был зарегистрирован двухфазный и двугорбый зубец Т [88].

Нарушения конечной части желудочкового комплекса являются, по-видимому, довольно частыми электрокардиографическими изменениями в длительных космических полетах [89].

Сравнение структуры заболеваний и повреждений, возникших в ходе полетов на комплексе "Мир" и американских космических экспедиций (таблица 1 и таблица 2) [10] показывает, что в основном медицинские происшествия имели сходный характер.

Таблица 1. Заболеваемость членов экипажей американских космических экспедиций

Заболевание	Число случаев	Время возникновения
Высотные боли	2	В полете
Заболевания верхних дыхательных путей	8	До и во время полета
Вирусная желудочно-кишечная инфекция	3	До и во время полета
Раздражение слизистой оболочки глаз и кожи стекловолокном	3	В полете
Кожная инфекция	2	В полете

Травма	1	При посадке
Инфекция мочевого тракта	1	В полете
Контактный дерматит	2	В полете
Аритмия	2	В полете
Аритмия	2	После полета
Серозный отит	1	В полете
Повреждение глаз и пальцев	1	В полете
Ячмень	1	В полете
Нарыв	1	В полете
Растяжение мышц спины	1	После полета
Сыпь	1	В полете
Переутомление	3	В полете
Токсическая пневмония	3	При посадке

Таблица 2. Заболевания и повреждения, возникшие у космонавтов, работавших на орбитальном комплексе «Мир»

Заболевания или повреждения	Число случаев
Нарушение сна или усталость	7
Утомление и боли в мышцах после внекорабельной деятельности	6
Нарушение сердечного ритма	5
Тяжесть в голове, головные боли	5
Раздражение кожи в местах фиксации электродов	5
Мелкие травматические повреждения кожи	3
Эритема конъюнктивы глаз при ультрафиолетовом облучении	3
Растяжение мышц	1
Поверхностный ожог	1
Изменение микрофлоры желудочно-кишечного тракта	1
Изменение конечной части желудочкового комплекса ЭКГ	1
Кариозная полость зуба	1
Катаральный ларингит	1

В то же время при полетах отечественных космонавтов довольно значительное место занимали субъективная и объективная симптоматики, свидетельствующие об изменениях деятельности сердечно-сосудистой

(нарушения ритма сердца, изменения конечной части желудочкового комплекса ЭКГ) и центральной нервной системы (нарушения сна, утомляемость). В подавляющем большинстве случаев эти изменения начинали выявляться примерно со 2-3-го месяца пилотируемых полетов, этим и объясняются некоторые различия в структуре медицинских происшествий у российских и американских космонавтов. Помимо этого, определенная разница в распределении заболеваний и повреждений может быть тесно связана с особенностями космических программ и профессиональной деятельности космонавтов и астронавтов. Довольно интенсивная деятельность советских космонавтов по выполнению работ в условиях открытого космоса предопределила, по-видимому, относительно высокий уровень симптоматики, связанной с появлением после внекорабельной деятельности утомления и болей в мышцах.

Таким образом, несмотря на довольно жесткие рамки медицинских требований, предъявляемых к кандидатам в космонавты, проведение достаточно эффективной предполетной подготовки членов космических экипажей, в космическом полете могут возникать разнообразные, в том числе и серьезные, заболевания и повреждения. Как показывает анализ заболеваемости, наиболее часто возникают незначительные расстройства, которые не оказывают выраженного влияния на состояние здоровья и уровень работоспособности членов космических экспедиций. С меньшей частотой развиваются серьезные медицинские случаи, которые могут представлять угрозу для здоровья космонавтов и повлечь за собой невыполнение программ космических полетов.

На основании анализа совокупности данных исходного состояния космонавтов, исследования влияния факторов космического полета, изучения структуры заболеваемости населения в целом и, в частности, отдельных групп, работающих в автономном режиме был разработан и составлен список вероятных заболеваний и повреждений [10], «которые могут развиваться в условиях пилотируемых космических полетов:

- заболевания и повреждения центральной и периферической нервной системы (черепно-мозговая травма, травма спинного мозга, астено-невротический синдром, невралгия, невриты, радикулиты, эмоциональные нарушения, психические нарушения);

- заболевания сердечно-сосудистой системы (стенокардия, инфаркт миокарда, нарушения сердечного ритма и проводимости, гипертонические и гипотонические реакции, изменения биоэлектрической активности миокарда метаболической природы, синдром, связанный с перераспределением жидких сред в краниальном направлении);

- заболевания органов дыхания (бронхиты, пневмонии);

- заболевания органов желудочно-кишечного тракта и печени (острые гастриты, энтероколиты, колиты, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, острый аппендицит, острый холецистит, желчнокаменная болезнь, метеоризм, геморрой, запоры, диарея, дисбактериоз);

- острые заболевания органов мочевого выделения и половых органов (уретриты, циститы, пиелоститы, простатиты и т.д., почечнокаменная болезнь);

- заболевания и повреждения кожных покровов и кожно-жировой клетчатки (дерматиты, фурункул, карбункул, пиодермия, мелкие травмы, ссадины, раны, поверхностные ожоги);

- анемический синдром;

- заболевания и повреждения уха, горла, носа и верхних дыхательных путей (риниты, синуситы, тонзиллиты, фарингиты, ларингиты, трахеиты, отиты);

- травматические повреждения, заболевания и повреждения глаз (конъюнктивиты, кератиты, блефариты, ячмень, инородное тело глаза, проникающее ранение глаз);

- заболевания и повреждения стоматологического профиля (стоматиты, гингивиты, кариес, пульпиты, перелом верхней и нижней челюстей, вывих нижней челюсти);

- заболевания и повреждения опорно-двигательного аппарата (ушибы, вывихи, переломы, повреждения связок, артриты, бурситы, миалгия, миозиты и т.д.);
- аллергические реакции и заболевания;
- специфические заболевания и повреждения, связанные с болезнетворным влиянием факторов среды обитания (аэроотит, аэросинусит, подкожная эмфизема, декомпрессионная болезнь, синдром "взрывной" декомпрессии, термические, токсические, радиационные поражения, поражения, связанные с воздействием ультрафиолетового облучения, и т.д.);
- онкологические заболевания;
- инфекционные заболевания;
- жизнеугрожающие состояния (остановка сердечной деятельности и дыхания, шок травматический, ожоговый, анафилактический, кардиогенный, геморрагический, черепно-мозговая кома, интоксикации, гипоксия, асфиксия и т.д.).

К наиболее вероятным можно отнести заболевания, чувствительных к факторам космического полета, центральной нервной, сердечно-сосудистой и костно-мышечной систем, а также воспалительные процессы, возникновению которых могут способствовать снижение иммунитета космонавта и повышение вирулентности микроорганизмов, а также мелкие травмы кожи и слизистых оболочек.» Похожая оценка представлена в работах американских и европейских специалистов [90,91]. Риск возникновения других заболеваний, таких как, злокачественные новообразования или тяжёлые инфекции значительно ниже и, вероятнее всего, их возникновение станет следствием грубых нарушений, допущенных на этапе отбора, в ходе подготовки или предполётного карантина. Риск тяжёлых травм и ожогов также не столь велик, в первую очередь, из-за отсутствия серьёзных травмирующих факторов и высоких требований по противопожарной безопасности на борту станции [92]. Тем не менее, при оценке этих рисков нужно принимать во внимание, что последствия возникновения этих патологических состояний будут критическим как для продолжения космической

миссии, так и для здоровья, а в некоторых случаях и жизни космонавта. Поэтому риск развития маловероятных, но тяжёлых клинических ситуаций, необходимо учитывать.

Дополнительную опасность при возникновении тяжёлых клинических ситуаций в ходе космического полёта, представляет тот факт, что в настоящее время, на борту пилотируемых космических объектов (орбитальных станций, космических кораблей) отсутствует полноценный комплекс диагностического оборудования и средств оказания медицинской помощи пациентам в критическом или даже тяжёлом состоянии. Помимо этого, в составе экипажей практически отсутствуют медицинские специалисты достаточной квалификации.

Таким образом, по мнению авторов [10], «все жизнеопасные состояния, которые потенциально могут возникнуть в полете, целесообразно объединить в одну группу заболеваний и повреждений. Такое объединение оправдано необходимостью единой тактики ведения заболевшего космонавта:

1. Оказание первой доврачебной помощи (остановка кровотечения, иммобилизация поврежденной конечности и т.д.) и определение сроков возвращения на Землю при наличии таковой возможности.
2. Немедленная посадка или отсроченное на 1-2 суток возвращение с целью стабилизации деятельности основных функциональных систем организма и уменьшения риска гибели пострадавшего на участках спуска.
3. При невозможности возвращения на Землю оказание медицинской помощи в максимально возможном для межпланетной и напланетной станции объеме, симптоматическая и паллиативная терапия.

Остальную часть возможных полетных заболеваний и повреждений можно условно разделить на две группы. В одну группу можно объединить заболевания и повреждения, протекающие с выраженной субъективной симптоматикой и (или), диагностируемые с помощью объективных методов исследования. Эти заболевания требуют консультативной помощи наземных медицинских служб, определения тактики лечебно-профилактической помощи и, в ряде случаев, являются основанием

для ограничения профессиональной деятельности космонавтов или для прекращения космического полета. С учетом ограничений в режимах связи между межпланетными и напланетными станциями и медицинскими специалистами наземных служб (задержка сигнала, зоны с отсутствием сигнала) необходима разработка электронной базы медицинской консультативной информации и алгоритмы принятия решений в медицинских ситуациях. К этой категории заболеваний можно отнести выраженные нарушения сердечного ритма и проводимости, гипертензивные реакции, ряд острых воспалительных заболеваний и т.п.

Другая группа - это заболевания и повреждения, которые протекают с маловыраженной клинической симптоматикой, проходят самостоятельно или после незначительной по объему медицинской помощи, не всегда требуют проведения консультаций с наземными медицинскими службами и не оказывают заметного влияния на состояние здоровья и работоспособности. К этой группе относятся мелкие травматические повреждения кожных покровов - ссадины, царапины, незначительные порезы, поверхностные термические поражения небольшой площади и т.п.

Теоретический анализ возможных заболеваний и повреждений в условиях космического полета дает основание считать, что при разработке мероприятий по медицинскому обеспечению пилотируемых космических полетов следует принимать во внимание не только структуру потенциально возможных функциональных и соматических нарушений, но и ожидаемую частоту их развития, а также вероятные последствия этих заболеваний для здоровья и работоспособности космонавтов».

1.2 Основные типовые патологические процессы, патофизиологические механизмы и их звенья наиболее подверженные влиянию гравитационного фактора.

В предыдущем разделе, мы определили перечень возможных и наиболее вероятных заболеваний в условиях невесомости, но каждое заболевание, обладающее определенной этиологией, патогенезом и требующее конкретных

методов лечения, в основе своей состоит из набора типовых патологических процессов.

Представление о патологических процессах, как на Земле, так и в условиях космического полета формируется из информации о морфологических, биохимических и функциональных изменениях в отдельных клетках, тканях и системах органов, возникающих при различных заболеваниях. Также, как и физиологические, патофизиологические процессы формировались на Земле в условиях действия нормальной (1G) гравитации. Учитывая изменения, которые происходят в физиологии человека в невесомости было бы закономерно ожидать, что и патологические процессы будут иметь свои особенности.

Для понимания особенностей развития патологических процессов в условиях космического полета необходимо знать какие звенья в патогенезе того или иного заболевания или типового патологического процесса могут быть подвержены изменениям под действием факторов космического полета.

В этом разделе мы рассмотрим традиционные представления об этиологии типовых патологических процессах, их патогенезе и исходах, а также этапах, которые могут подвергаться изменениям в условиях микрогравитации.

1.2.1 Молекулярно-клеточный уровень.

Любая клетка в процессе своей жизнедеятельности поддерживает нормальное состояние – гомеостаз и выполняет определенный набор физиологических функций. В ответ на действие повреждающего фактора клетка может отвечать адаптацией или повреждением. Адаптационные механизмы включаются в ответ на действие патологических факторов слабых или средней тяжести, к которым относится усиленная или ослабленная стимуляция, недостаток необходимых питательных веществ, постоянное воздействие физических или химических агентов. Адаптация является обратимым изменением размера, количества, фенотипа, метаболической активности и функции клеток и опосредуется следующими возможными формами: гипертрофия, атрофия, гиперплазия или метаплазия.

При воздействии на клетку патологического фактора, к которому клетка не может адаптироваться в результате его силы или длительности воздействия наступает повреждение клетки и ее смерть.

В основе повреждения клетки лежит несколько патогенетических механизмов, которые могут возникать как вместе, так и отдельно и потенцировать друг друга. Устойчивость клеток к повреждению зависит от функционального состояния, адаптационных возможностей и метаболического статуса.

Ключевыми звеньями повреждения клеток являются:

- снижение запасов АТФ;
- повреждение митохондрий;
- повышение внутриклеточной концентрации Ca^{++} ;
- повышение концентрации активных форм кислорода (АФК);
- повреждение клеточных мембран;
- неправильное свертывание белков, повреждение ДНК.

Основной вопрос, который определяет сходство или отличие патологических процессов на клеточном уровне в условиях космического полета и на Земле: «Влияет ли невесомость или другие факторы полета на указанные выше ключевые звенья повреждения клеток?» Если ответ: да, то течение основных патологических механизмов в космическом полете будет отличаться от развития патологии на Земле.

Экспериментальные исследования клеток и клеточных культур в космосе ограничивает ряд моментов. В первую очередь, то, что космический полет представляет собой комплексное воздействие и роль отдельных факторов (микрогравитации, радиации, изоляции и т.п.) в выявленных изменениях порой установить невозможно. Кроме того, оборудование для клеточных экспериментов, как правило, имеет большие массогабаритные характеристики и значительное энергопотребление.

Эти факторы привели к тому, что многие клеточные процессы до настоящего времени малоисследованы. В то же время, основной материал по клеточной биологии получен на наземных моделях.

В качестве одного из основных неблагоприятных факторов космического полета признана микрогравитация. Основным принцип моделирования микрогравитации для клеток и клеточных культур состоит в постоянной смене положения исследуемого объекта относительно вектора гравитации. Для этого используется вращение вокруг горизонтальной оси – 2D клиностат, трехмерное клиностатирование - 3D клиностат или Random Position Mashine (RPM) и биореактор в виде вращающихся сосудов для суспензионных культур Rotating Wall Vessel (RWV) [93]. Для адгезивных культур клеток наиболее подходящей моделью микрогравитации считается RPM. На космической станции значения силы тяжести примерно равны $10^{-4} - 10^{-6}g$. RPM и RWV ослабляют гравитационную нагрузку до $10^{-2} - 10^{-3}g$. Несмотря на это, результаты полученные на RPM и RWV сопоставимы не только между собой, но и схожи с результатами, полученными в условиях космического полета [94,95,96].

Целенаправленных исследований патологических процессов в клетках в условиях микрогравитации не проводилось, но некоторые эксперименты по клеточной физиологии в условиях микрогравитации могут косвенно свидетельствовать и об изменении ключевых звеньев в повреждении клетки.

Например, достоверно установлен факт изменения в условиях микрогравитации актинового цитоскелета как в реальном космическом полете, так и при клиностатировании [97,98]. Дальнейшие исследования показали, что ремоделирование цитоскелета возникает на раннем этапе адаптации к невесомости. Уже через 30 минут при клиностатировании появляются первые признаки, а через 24 часа цитоскелет клетки уже полностью перестраивается. Эти изменения носят обратимый характер и при возвращении к постоянному вектору гравитации через сутки возвращаются к исходному состоянию [99,100], но при пребывании в невесомости сохраняются более длительное время.

Как уже упоминалось выше, одним из ключевых звеньев повреждения клетки является повреждение мембран (плазматической, митохондриальной и лизосомальной). Филаменты цитоскелета соединяют плазматическую мембрану с внутренней частью клетки. При перестройке цитоскелета возможно повреждение

или, по крайней мере, изменение структуры и функции плазматической мембраны, что может внести особенности в этот важный этап повреждения клетки.

Кроме перестройки цитоскелета на клеточную мембрану может оказывать существенное влияние экспрессия молекул адгезии, которую также изучали в условиях как реальной, так и моделированной невесомости [101,102]. Полученные результаты отличались как по методикам: исследовали уровень молекул адгезии sICAM-1 в крови [101] и ICAM-1 на поверхности эндотелия сонной артерии, грудной аорты и бедренной вены [102], так и по результатам. Уровень молекул адгезии на поверхности эндотелия сонной артерии и грудной аорты увеличивался, а в крови и на поверхности бедренной артерии уменьшался или не менялся.

Последующие эксперименты также не внесли ясность, поскольку результаты серьезно зависят от условий культивирования клеток, методики моделирования и клеточных линий [103]. Однако, если предположить, что экспрессия молекул адгезии на поверхности эндотелия увеличивается, это может быть существенным моментом для повреждения клеточной мембраны провоспалительными цитокинами или АФК.

На механизмы повреждения может влиять и способность клетки к выработке провоспалительных цитокинов. Исследования влияния моделируемой микрогравитации на клетки в модельных экспериментах продемонстрировали неоднозначные результаты. При изучении влияния эффектов микрогравитации на мезенхимальные стромальные клетки выявлено увеличение концентрации IL-8 от 1,5 до 6 раз, в зависимости от способа и длительности моделирования микрогравитации. При этом продукция IL-6 имела тенденцию к уменьшению [104]. В эндотелиальных клетках пупочной вены человека, моделируемая микрогравитация длительностью 24 часа не вызывает изменения продукции этих интерлейкинов как в интактном состоянии, так и при провоспалительной активации клеток ФНО- α [105]. Можно предположить, что микрогравитация не меняет течение воспалительной реакции, по крайней мере, в части продукции провоспалительных цитокинов. Однако, в другом исследовании изучали синергический эффект провоспалительной стимуляции и микрогравитации на

цитоскелет и экспрессию молекулы адгезии VE-кадгерина. Установлено, что моделируемая микрогравитация и провоспалительная активация ФНО- α обладают аддитивным эффектом на цитоскелет эндотелиальных клеток [106]. Таким образом, утверждать однозначно, меняет ли микрогравитация течение воспалительной реакции на клеточном уровне мы до сих пор не можем.

Не менее важным механизмом повреждения клетки являются повреждение митохондрий и повышение концентрации АФК. В последних исследованиях на мультипотентных мезенхимальных стромальных клетках не выявлено изменений в уровне АФК и трансмембранном потенциале митохондрий [107].

Из приведенных выше данных можно сделать вывод, что микрогравитация достоверно меняет цитоскелет клеток и может даже без изменения других звеньев повреждения клетки (повреждение митохондрий, повышение концентрации Ca^{2+} , АФК или снижения концентрации АТФ итд.) влиять на течение патологических процессов на клеточном уровне.

1.2.2 Тканевой уровень.

Следующим после клеточного уровня ответа на повреждающие факторы является тканевой. Основной тканевой реакцией организма в ответ на повреждение любой природы является воспаление.

Воспаление представляет собой комплексную сосудисто-мезенхимальную тканевую реакцию.

Лейкоциты, моноциты и белки плазмы крови являются основными компонентами клеточного воспалительного ответа. Для достижения очага повреждения, расположенного, как правило, в тканях необходима определенная сосудистая реакция. За активацию как сосудистого, так и клеточного воспалительного ответа отвечают медиаторы воспаления. Именно они определяют тип, тяжесть и клинико-морфологические проявления воспалительного ответа. Стимулом для выработки медиаторов воспаления являются некроз ткани, микробная инфекция и в некоторых случаях даже гипоксия.

Если этиологические факторы воспаления в условиях космического полета и на Земле схожи, то механизмы развития воспалительной реакции могут иметь существенные отличия.

В первую очередь это касается сосудистого компонента воспалительной реакции. При любом воспалительном процессе сосудистые изменения заключаются в изменении кровотока и проницаемости сосудистой стенки, которые проходят определенные стадии.

На первом этапе после возникновения повреждения, происходит сосудистый спазм, через некоторое время сменяющийся вазодилатацией артериол и капилляров, приводящей к увеличению кровотока, повышению температуры и гиперемии области воспаления. Медиаторами, вызывающими расширение сосудов, являются оксид азота, гистамин и эйкозаноиды. Параллельно этому происходит повышение проницаемости сосудов и выход плазмы крови в ткани, которое влечет замедление кровотока, венозную гиперемию и стаз крови в микроциркуляторном русле, повышается количество молекул адгезии и лейкоциты прикрепляются к поверхности эндотелия. Завершающим этапом является транспорт лейкоцитов через сосудистую стенку в очаг воспаления.

В невесомости изменения в сердечно-сосудистой системе так или иначе касаются практически всех этих этапов.

Тонус сосудов, и в первую очередь артериальных вазоконстрикторов в космическом полете в первую очередь меняется под действием рефлекторных стимулов и зависит от региона. Так были получены данные о повышении кровотока в нижних конечностях на протяжении 3-х месячного полета, что предполагает снижение тонуса артерий нижних конечностей [108]. В бассейне внутренних сонных артерий отмечено некоторое снижение тонуса мелких сосудов, по данным РЭГ. Однако в целом, как и до полета, РЭГ имела выраженный гипертензивный вид. Тонус мелких сосудов предплечья и голени снижался, больше на уровне предплечья, а в сосудах малого круга кровообращения наблюдались признаки гиперволемии и повышения тонуса сосудов [109].

Таким образом, сосудистый компонент воспалительной реакции в невесомости будет меняться в зависимости от локализации воспалительного очага и сроков пребывания человека в условиях микрогравитации.

Не только тонус сосудов влияет на формирование воспалительного очага, но и проницаемость сосудистой стенки.

В модельных экспериментах с антиортостатическим положением испытуемых различной продолжительности было показано увеличение проницаемости сосудистой стенки [110].

Повышение сосудистой проницаемости и снижение тонуса артериальных сосудов может усилить приток крови в очаг воспаления, увеличить отек окружающих тканей, внести изменения в развитие и исход воспалительного процесса в условиях микрогравитации.

Следующим патогенетическим звеном в развитии воспаления является реакция лейкоцитов, которая заключается в миграции их в очаг повреждения, активация и элиминация повреждающих агентов.

При излишней активации лейкоциты могут повредить нормальную ткань и продлить воспаление. Алгоритм участия лейкоцитов в воспалении реализуется в несколько этапов: выход из кровотока в окружающую ткань, распознавание инородных агентов и некротической ткани, фагоцитоз и удаление повреждающего агента.

При замедлении скорости кровотока в сосудах, сопровождающем воспалительный процесс, лейкоциты перераспределяются в кровеносом русле и перемещаются вплотную к сосудистой стенке. Далее происходит роллинг и адгезия лейкоцитов к поверхности эндотелия. Адгезия лейкоцитов опосредуется молекулами адгезии, экспрессию которых усиливают цитокины [111]. Влияние невесомости на экспрессию молекул адгезии мы рассматривали выше. По данным полученным в реальных полетах и модельных экспериментах, уровень экспрессии молекул адгезии отличается в верхней и нижней половине туловища. Это также, как и регионарные изменения сосудистого тонуса может оказывать влияние на течение воспалительного процесса.

Лейкоциты являются ключевым звеном воспалительной реакции, однако, помимо их прямого участия в поглощении и элиминации повреждающего агента, они продуцируют медиаторы воспаления, которые являются ответственными за последовательность системных реакций, происходящих при остром воспалении. Основными источниками медиаторов являются тучные клетки, макрофаги, базофилы, тромбоциты и эндотелиоциты. К медиаторам относятся гистамин, серотонин, простагландины и лейкотриены, фактор активации тромбоцитов, цитокины (TNF, IL-1 и др.) и хемокины. На определенном этапе в качестве медиаторов воспаления могут выступать оксид азота и активные формы кислорода.

Различные медиаторы воспаления участвуют в разных механизмах воспалительной реакции. Так простагландины, оксид азота и гистамин участвуют в вазодилатации и локальном замедлении тока крови; гистамин, серотонин, брадикинин и другие - повышают сосудистую проницаемость; за хемотаксис, мобилизацию и активацию лейкоцитов отвечают TNF, IL-1, хемокины и лейкотриены. Клинические проявления воспаления, такие как лихорадка и боль, реализуются посредством простагландинов и брадикинина, а за повреждение ткани ответственны лизосомные ферменты лейкоцитов, активные формы кислорода и оксид азота.

О влиянии микрогравитации на провоспалительные цитокины было сказано выше, что еще раз подтверждает возможность влияния микрогравитации на развитие воспалительного процесса и на регуляторном уровне.

Говоря об отдельных механизмах воспалительного процесса, нельзя не упомянуть и о воспалительных реакциях острой фазы к которым относятся лихорадка, выработка белков острой фазы, лейкоцитоз со сдвигом формулы белой крови, изменения в сердечно-сосудистой системе (повышение ЧСС и АД). Развитие воспалительной реакции в конечном итоге может привести к включению системного воспалительного ответа и септическому шоку.

В условиях космического полета, под действием микрогравитации и изоляции ряд системных воспалительных реакций может иметь свои особенности.

Во-первых, температурная реакция или лихорадка. Это одно из наиболее частых проявлений инфекционного воспаления в острой фазе. Температурная реакция является ответом на действие особых веществ - пирогенов. И если продукты деятельности микроорганизмов, такие как липополисахарид относятся к экзогенным пирогенам и об их изменениях в условиях невесомости ничего не известно, то к эндогенным пирогенам относятся цитокины, вырабатываемые лейкоцитами, например, IL-1, TNF. По данным разных авторов, цитокиновый ответ в условиях космического полета и модельных исследованиях может иметь существенные отличия [112-115]. Таким образом, температурная реакция в ответ на воспаление может изменяться.

Продукция белков острой фазы зависит от белковосинтезирующей функции печени, которая снижается в условиях реальной и моделируемой невесомости [116,117].

Восстановление поврежденных тканей является неотъемлемой частью патологического процесса на тканевом уровне. Механизмы регенерации и репарации также подвергаются специфической перестройке под действием невесомости.

Регенерация, как полное восстановление поврежденных тканей, в человеческом организме присутствует в основном в тканях с высоким пролиферативным потенциалом, к которым относятся кроветворные органы и эпителиальный покров кожи и желудочно-кишечного тракта. Для остальных структур скорее характерна репарация или частичное восстановление, сочетающая регенерацию и соединительнотканное замещение поврежденной ткани (рубцевание).

В основе регенерации лежит клеточный рост и пролиферативный потенциал тканей, опосредованный факторами роста и клеточными сигнальными механизмами. Клеточная пролиферация регулируется растворимыми или контактными сигнальными молекулами, которые усиливают или подавляют деление клеток.

Центральное место в поддержании тканевого гомеостаза, регенерации и репарации занимает клеточный цикл, который представляет собой строго регулируемый процесс, состоящий из 4 фаз: пресинтетическая фаза (G_1), фаза синтеза ДНК (S), премитотическая фаза (G_2) и фаза митоза (M). Регулируется клеточный цикл и репликация клеток, через сигнальные пути и рецепторы, различными факторами роста, воздействующими на определенные клетки-мишени.

В наземных экспериментальных исследованиях на клеточных линиях было показано изменения клеточного цикла при моделировании микрогравитации на 3-D клиноstate, которые заключались в существенном увеличении процента клеток, находящихся в пресинтетической фазе (G_1) и не вступающих в процесс деления [118].

В работах других исследователей показано влияние моделируемой микрогравитации на продукцию факторов роста (VEGF, IL-8, IGFBP), так же принимающих участие в процессах клеточного роста и репликации [119].

В реальном космическом полете были выявлены изменения со стороны такого важного компонента, участвующего в процессах регенерации и репарации, как внеклеточный матрикс (ВКМ). В 3D сфероидах образовавшихся в культуре эндотелиальных клеток, экспонировавшихся в течение 12 суток в условиях невесомости увеличивалось содержание коллагена и ламинина, одних из ключевых белков в структуре ВКМ [120].

В экспериментах на биоспутниках было получены неоднозначные результаты по влиянию микрогравитации на регенерацию у экспериментальных животных. Данные полученные в космических экспериментах на хвостатых амфибиях *Pleurodeles waltii* свидетельствуют об усилении пролиферации стволовых клеток и ускорении последовательной дифференцировки в сетчатке, хрусталике и конечностях, приводя к образованию более крупных и развитых регенератов, чем в наземном контроле [121]. В то же время, в экспериментах на мышах (по программе Бион-1) та же группа исследователей получила противоположные

результаты об ухудшении процессов регенерации в четырехглавой мышце бедра [122].

Американские исследователи, как было указано выше [71-73] в экспериментах на животных отметили ухудшение заживления ран после короткого космического полета.

Таким образом, можно сказать, что влияние микрогравитации на репарационные процессы не до конца ясно и требует дальнейших исследований. В то же время, очевидная зависимость от невесомости отдельных механизмов, участвующих в процессах восстановления тканей после повреждения, безусловно приведет к изменению этих процессов в условиях космического полета.

1.2.3 Системный уровень.

Практически все заболевания имеют сходные проявления и симптомы захватывающие не только клеточный и тканевой, но и системный уровень. К таким, единым для многих нозологий, процессам относят боль и отек, инфаркт и кровотечение, тромбоз и эмболию, шок и некоторые другие.

Одним из главных универсальных симптомов большинства патологических состояний является **боль**. По своему биологическому предназначению боль скорее относится к физиологическим процессам, главная задача которого предупредить организм об опасности и стимулировать защитные механизмы. Однако, ее полезная функция сохраняется только до тех пор, пока она предупреждает организм о повреждении. В дальнейшем болевое ощущение превращается в самостоятельный повреждающий фактор и один из самых неприятных симптомов болезни, на который жалуются пациенты вне зависимости от конкретной патологии. Боль является причиной нарушения трудоспособности, мощным стрессогенным фактором, вызывает нервно-психические расстройства и приводит к нарушениям микроциркуляции, вплоть до развития шокового состояния.

Граница между физиологической и патологической болью зависит от физического и психического состояния человека. Один и тот же стимул может в одном случае может вызывать сильную боль, а в другом случае остаться незамеченным.

Комплекс факторов космического полета может влиять, как на психологический, так и физиологический компоненты болевого ощущения. Специальных исследований болевой чувствительности в космических полетах, до недавнего времени, не проводили. В настоящее время на борту МКС проходит эксперимент по оценке болевой чувствительности [123]. В модельных экспериментах на животных с использованием антиортостатического положения получены различные результаты: в исследованиях на крысах, с использованием модели хвостового вывешивания, получены данные о повышении болевой чувствительности в ответ на механический стимул [124, 125]. В других экспериментах, при аналогичном методе моделирования микрогравитации, у крыс в ответ на термическое раздражение, выявлено снижение болевой чувствительности [126].

Тем не менее, имеются сообщения о том, что эффекты микрогравитации могут влиять на патогенетические механизмы болевой чувствительности. В экспериментах показана зависимость болевой чувствительности от толщины серого вещества и морфофункциональных особенностей корково-подкорковых структур головного мозга [127], состояние которых в свою очередь зависит от кровотока и объема интерстициальной жидкости [128], а, следовательно, может меняться при перемещении жидкости в краниальном направлении. Показано влияние стресса и гормонов гипоталамо-гипофизарного-адренокортикальной системы на болевую чувствительность [129]. Таким образом, наши знания о таком важном аспекте практически любого заболевания, как болевая чувствительность, явно недостаточны.

Одним из системных проявлений патологического процесса является отек. **Отек**, как избыточное накопление жидкости в интерстициальной ткани, может быть воспалительного и невоспалительного характера. При воспалении отечная жидкость — экссудат, богата белком и ее образование связано с повышением проницаемости сосудистой стенки, продукцией лейкоцитами и другими клетками медиаторов воспаления. Эти механизмы рассмотрены выше. Невоспалительный отек возникает при нарушении баланса гидростатического давления в

микроциркуляторном русле и коллоидно-осмотического давления плазмы крови. И если коллоидно-осмотическое давление плазмы крови в невесомости остается без изменений, то гидростатическое давление серьезно изменяется в зависимости от региона тела [130].

Это приводит к тому, что ткани верхней половины тела в условиях микрогравитации накапливают избыточную интерстициальную жидкость даже в отсутствии заболевания, а при возникновении каких-либо патологических состояний (инсульт головного мозга, травма) отёк, вызванный повреждением, будет усиливаться.

Ещё одним механизмом, повышающим риск развития отека является задержка натрия и, как следствие, воды в организме. С этой точки зрения, на этапе острой адаптации к невесомости в первые 2 недели полета, риск возникновения отеков должен уменьшаться, так как одним из классических механизмов адаптации к невесомости является выработка предсердного натрийуретического фактора и выведение натрия и воды почками [131]. Однако, мы видим, особенно, в первые недели полета выраженную отечность лица и шеи у космонавтов. То есть изменения гидростатического давления в системе микроциркуляции, связанные с перераспределением жидких сред в краниальном направлении, являются определяющими в накоплении избыточной жидкости в интерстициальной ткани.

Именно с перераспределением крови в верхнюю половину туловища, повышением внутричерепного давления и, как следствие, отеком диска зрительного нерва специалисты связывают нарушения зрения у астронавтов после длительных полетов, объединенные американскими исследователями в понятие SANS (Spaceflight associated neuro-ocular syndrome) [132].

К системному уровню патологического процесса, включающему и сосудистое русло и клетки крови относится кровотечение и система гемостаза.

При возникновении кровотечения в норме как на Земле, так и в космосе включаются механизмы гемостаза. В процессе гемостаза участвуют три компонента: сосудистая стенка, тромбоциты и коагуляционный каскад.

При возникновении повреждения, первой реакцией сосуда является вазоконстрикция, реализуемая через рефлекторные механизмы и местные секреторные факторы, такие как эндотелин. Поврежденный эндотелий обнажает внеклеточный матрикс, который в свою очередь способствует адгезии и активации тромбоцитов. Помимо вазоконстриктора эндотелина, эндотелиальные клетки вырабатывают тромбопластин, который вместе с фактором VII запускает коагуляционный каскад.

По данным разных исследователей, реакция на реальные и моделируемые факторы космического полета не одинакова. Так по данным немецких исследователей, 60-ти дневная антиортостатическая гипокинезия не оказала значимого влияния на состояние системы гемостаза [133]. По российским данным, околосоуточная (21 час) антиортостатическая гипокинезия, также не оказала влияния на показатели свертывающей системы [134]. Однако, полетные данные полученные после кратковременных (10-11 суток) космических полетов и длительных экспедиций (178-199 суток) указывают на увеличение концентрации в плазме крови отдельных элементов прокоагулянтной системы, а после длительных - еще и некоторое ослабление фибринолитического звена системы гемостаза [135]. Вероятнее всего основной причиной повышения свертывающих показателей в плазме крови являются гормональные изменения в организме космонавтов в космическом полете, особенно на завершающем этапе (этапе спуска), который характеризуется повышенным уровнем стресса и высокими значениями в крови кортизола и адреналина. Гормоны симпато-адреналовой и каликреин-кининовой систем являются активаторами XII фактора свертывания.

Влияние микрогравитации на функцию эндотелиальных клеток описано выше, однако необходимо отметить, что изменения продукции эндотелина может оказать влияние на первый этап гемостаза связанный с местной вазоконстрикцией.

Функция тромбоцитов в измененных гравитационных условиях также может меняться. По данным китайских исследователей в условиях микрогравитации адгезия и агрегация тромбоцитов снижается, а в условиях перегрузок или повышенной гравитации возрастает [136].

Инфаркт.

Инфарктом называют область ишемического некроза в следствие окклюзии кровоснабжающей данную область артерии или нарушение венозного оттока. В большинстве случаев причиной инфаркта является тромбоз или эмболия артериальных сосудов. Развитие инфаркта миокарда, его последствия зависят от нескольких факторов. Во-первых, это характер кровоснабжения органа. Органы с двойным кровоснабжением, такие как легкие и печень более устойчивы к окклюзии и ишемии, а в почках или селезенке, имеющих артериально-концевое кровоснабжение инфаркт возникает быстрее. Во-вторых, развитие инфаркта зависит от скорости развития окклюзии. Как правило, при длительном и постепенном нарастании обтурации в органах формируется коллатеральный кровоток, который может оказаться достаточным для предотвращения инфаркта даже при полной окклюзии главного артериального сосуда. Такая ситуация встречается, например, при длительном течении ИБС. В-третьих, развитие инфаркта зависит от чувствительности тех или иных тканей к гипоксии. Так нейроны погибают в отсутствии кислорода уже через 4-5 минут, миокардиальные клетки могут сопротивляться ишемии около 30 минут, а фибробласты в миокарде сохраняют жизнеспособность в течение нескольких часов. И, наконец, развитие инфаркта зависит от исходного содержания кислорода в крови. При наличии анемии, сердечной и легочной недостаточности даже незначительная обтурация артериального сосуда может привести к достижению критического порога ишемии и развитию инфаркта.

Исследователи не располагают данными об особенностях развития инфарктов в невесомости по понятным причинам: строгий отбор космонавтов к полету, отсутствие клинических наблюдений за развитием инфарктов в условиях микрогравитации или схожих условиях.

Однако, есть данные по ретроспективной оценке заболеваемости и смертности американских астронавтов программы «Апполон» от сердечно-сосудистых заболеваний [137]. Американские исследователи предполагают комбинированное патологическое влияние невесомости и радиации на сосудистый

эндотелий. Эти данные подтверждают и экспериментальные исследования на мышах [138,139]. Таким образом, можно предположить, что длительное комбинированное воздействие микрогравитации и космической радиации, не только существенно повышает риск развития инфарктов (в первую очередь сердца), но может менять их течение и ухудшать прогноз заболевания.

Шок.

Шок представляет собой патологическое состояние, характеризующееся несоответствием емкости сосудистого русла и объема циркулирующей крови. Многие клинические синдромы в терминальной стадии заканчиваются шоком. Без использования методов интенсивной терапии шоковые состояния в большинстве своем заканчиваются смертью пациента. Причин развития шокового состояния может быть много: массивная кровопотеря, инфаркт миокарда, обширные механические или термические травмы, инфекционное или токсическое поражение, анафилактические реакции и др. Но все они в той или иной степени сопровождаются либо значительным падением сердечного выброса, либо резким падением сосудистого тонуса, либо значительной гиповолемией. Как результат – гипотония, нарушение перфузии тканей и клеточная гипоксия. На начальном этапе шока метаболические и гипоксические процессы в тканях носят обратимый характер, но без соответствующей терапии они приводят к гибели клеток и смерти больного.

В результате адаптации к условиям невесомости в организме космонавтов происходят физиологические изменения, которые могут усугубить течение шока, вне зависимости от его причины.

Во-первых, это снижение ОЦК в полете у космонавтов. В ходе длительной космической миссии (около полугода) потери ОЦК составляют 10-20% [140]. Это еще более усугубляет один из главных патогенетических механизмов развития шока – гиповолемию.

Во-вторых, снижение вазомоторной функции сосудистого русла [138], также сокращает компенсаторные возможности сердечно-сосудистой системы противостоять несоответствию емкости сосудистого русла и ОЦК.

В-третьих, развитие артериальной гипоксемии [141] в условиях невесомости может усугублять тканевую гипоксию, возникающую в следствие нарушения тканевой перфузии. Сопrotивляемость тканей гипоксии может снижаться, что значительно ускорит наступление необратимых последствий шока.

1.3 Рабочая гипотеза и обоснование направлений исследования

На основании анализа опубликованных работ о наиболее вероятных патологических состояниях и заболеваниях космонавтов в условиях космического полета, а также о патогенетических звеньях типовых патологических процессов, наиболее подверженных воздействию гравитационного фактора (микрогравитации) нами сформулирована следующая гипотеза, определившая направления исследования патологических процессов в условиях моделированной микрогравитации применительно к задачам космической медицины. Согласно данной гипотезы, патогенез большинства заболеваний подвержен влиянию микрогравитации на всех уровнях от клеточного до системного. К наиболее важным изменениям в невесомости, которые способны повлиять на течение заболеваний, можно отнести:

- изменения цитоскелета, экспрессии молекул адгезии, продукции цитокинов и отклонения в клеточном цикле;
- изменения тонуса артериальных сосудов и проницаемости сосудистой стенки (сосудистый компонент воспалительной реакции);
- снижение синтеза белков, в том числе белков острой фазы воспаления;
- ухудшение (замедление) процессов регенерации;
- изменения чувствительности, в первую очередь, болевой;
- увеличение гидростатического давления верхней половины тела (выше гидростатически индифферентной точки);
- изменения в системе гемостаза с преобладанием гиперкоагуляции;
- гиповолемия.

Анализ заболеваемости космонавтов и астронавтов в условиях реальных космических полетов, подходов к оказанию медицинской помощи членам изолированных групп (экипажи подводных лодок и кораблей, участники полярных

экспедиций), а также перспективы перехода человечества к активному освоению космического пространства за пределами низкой околоземной орбиты свидетельствуют о повышении риска возникновения различных заболеваний у будущих участников космических миссий.

Повышенная вероятность возникновения заболеваний в будущих космических полетах требует совершенствования системы медицинского обеспечения и возможно новых подходов к диагностике и лечению патологии в ходе полета. Для этого необходимо понимать, как изменения в патогенетических механизмах могут реализоваться в клинических проявлениях болезни.

В качестве объекта исследования нами были выбраны основные патологические процессы, которые являются составными частями различных нозологий.

В первую очередь, это боль, являющаяся основной жалобой заболевших или пострадавших. При оценке тяжести болезни, опасна как гипералгезия, которая может стать причиной избыточного назначения анальгетиков, так и пониженная чувствительность, которая может привести к недооценке тяжести состояния пациента.

Вторым направлением наших исследований стало воспаление, как универсальный патологический процесс. Воспаление сопровождает большинство заболеваний и травм, может быть локальным и иметь системные проявления. В нашем исследовании за модель воспаления был взят перитонит.

Третьим направлением исследований был выбран инфаркт, как вариант тяжелого развития патологического процесса с некрозом ткани. Поскольку инфаркт различных органов имеет свои особенности, нами были выбраны инфаркт головного мозга и инфаркт миокарда. В качестве варианта травмы был выбран геморрагический (травматический) инфаркт головного мозга.

Наконец, большое количество заболеваний, как терапевтических, так и хирургических сопровождается потерей жидкости (плазма, кровь, водные потери), что приводит к снижению ОЦК. Этому было посвящено отдельное направление исследований.

Учитывая большое разнообразие нозологий и невозможность оценки особенностей клиники каждого заболевания в отдельности, для решения поставленных в работе задач и в соответствии с рабочей гипотезой, необходим комплексный подход к оценке влияния микрогравитации на основные типовые патологические процессы, являющиеся составными частями болезни. Это позволит в дальнейшем лучше прогнозировать течение отдельных заболеваний, возникающих в ходе полета и эффективнее проводить диагностику и терапию.

ГЛАВА 2. МЕТОДИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МАТЕРИАЛА

Задачи диссертации определили комплексный характер, проведенных экспериментальных работ и выбор объектов исследований. В качестве основных направлений исследования было решено выбрать 5 основных типовых патологических процессов, так или иначе, являющихся составными звеньями патогенеза большинства заболеваний. Это болевая чувствительность, гиповолемия, воспаление, инфаркт и травма. Болевую чувствительность и гиповолемию исследовали в экспериментах с участием человека. Тяжелые патологические процессы (воспаление, инфаркт, травма) моделировали в экспериментах на малых лабораторных животных - крысах (линейные и нелинейные).

Существенным фактором в проведении работы стала невозможность проведения исследований в реальных космических полетах, что ограничило нас модельными экспериментами.

2.1 Модели микро- и гипогравитации у человека.

2.1.1 Антиортостатическая гипокинезия.

Антиортостатическая гипокинезия (АНОГ) является классической моделью микрогравитации, получившей неоднократное подтверждение при сравнении с полетными данными, рисунок 1 [142]. Точкой приложения данной модели являются эффекты, возникающие в космическом полете из-за перераспределения жидких сред в краниальном направлении. Для создания необходимого перераспределения обследуемый находится на строгом постельном режиме на кровати с опущенным головным концом под углами от -6° до -15° . В наших исследованиях мы использовали угол -6° при АНОГ продолжительностью более суток и угол -15° при АНОГ продолжительностью до 24 часов. При этом обследуемым разрешались повороты относительно продольной оси тела и неограниченные движения руками для самообслуживания, приема пищи, выполнения экспериментальных методик.

При длительности АНОГ более суток испытуемым разрешалось принимать вертикальное положение один раз в сутки не более, чем на 10 минут для выполнения санитарно-гигиенических процедур.

Питание осуществлялось обычной пищей (стол №15, 3200 ккал/сутки), потребление воды не ограничивали, но вели подсчет диуреза.



Рисунок 1. Модель АНОГ.

2.1.2 Ортостатическая гипокинезия.

Перспектива возобновления лунной программы исследований потребовала от нас разработки и валидации методики моделирования эффектов пониженного уровня гравитации на организм космонавтов. Такая методика была разработана и запатентована [143,144]. За основу метода взята идея гравитационного перераспределения жидких сред в организме испытуемого под действием угла наклона тела. Однако, в отличие от невесомости для моделирования гипогравитации использована ортостатическая гипокинезия (ОГ) – пребывание в кровати с приподнятым изголовьем под углом, соответствующим уровню гравитации на моделируемом небесном теле. Математически лунной гравитации соответствует угол наклона вертикальной оси тела испытуемого $+9,6^\circ$. В остальном режим пребывания в ОГ схож с условиями пребывания в АНОГ.



Рисунок 2. Модель ОГ.

2.1.3 «Сухая» иммерсия.

«Сухая» иммерсия (СИ), также относится к классическим моделям микрогравитации. Однако, в большей степени используется как модель безопорности и централизации кровотока [145]. В наших исследованиях СИ использовали для экспериментов с болевой чувствительностью.

При моделировании микрогравитации методом СИ испытуемый на специальной пленке погружается в ванну, наполненную теплой водой ($36-38^{\circ}\text{C}$) до уровня шеи. Для приема пищи, выполнения экспериментальных методик ему разрешается использовать руки. В этом случае допускается всплытие до уровня подмышек. Также испытуемому разрешены повороты на бок. Длительность СИ составляла в наших исследованиях 21 час.

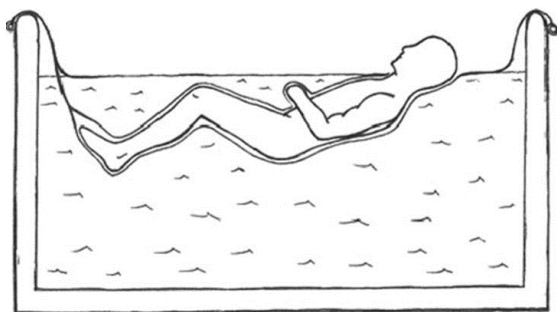


Рисунок 3. Модель СИ.

Подробно условия экспериментов указаны в соответствующих разделах.

Общее описание условий экспериментов с участием испытуемых-добровольцев и дополнительные воздействия указаны в таблице 3.

Таблица 3. Общее описание экспериментов с участием испытуемых-добровольцев:

Основное воздействие	Дополнительное воздействие	Продолжительность	Количество обследованных
АНОГ -15°		21 час	8
АНОГ -15°	Гиповолемиа	21 час	15
АНОГ -6°		21 день	10
АНОГ -6°	ОГ +9,6°	5 дней и 16 дней	12
ОГ +9,6°		14 дней	24
СИ		21 час	10

2.2 Методики исследования в экспериментах с участием испытуемых-добровольцев.

2.2.1 Оценка порогов болевой чувствительности.

Болевую чувствительность исследовали по методу «горячей пластины» с помощью прибора «Альгометр», изготовленного СКБ ЭО при ГНЦ РФ ИМБП РАН. Для определения порога болевой чувствительности обследуемому прикладывали нагреваемую пластину прибора к заранее выбранному участку тела. В нашем случае это была внутренняя поверхность предплечья, рисунок 4. Пластина равномерно нагревается от 20° С со скоростью 5,5° С/мин. При появлении болевых ощущений обследуемый фиксирует температуру путем нажатия на кнопку пульта, фиксируемая температура является порогом болевой чувствительности (ПЧ). Нагрев пластины продолжается до повторного нажатия обследуемым кнопки, когда, по его мнению, болевые ощущения становятся достаточно сильными, требующими немедленного прекращения обследования. Фиксируемая температура является порогом болевой переносимости (ПП). Обе цифры заносятся в протокол обследования. Для обеспечения безопасности обследуемого и предотвращения ожогов устанавливается программная блокировка нагрева пластины на уровне 50°С. По достижении этого значения нагрев пластины автоматически прекращается даже при отсутствии сигнала с пульта обследуемого.

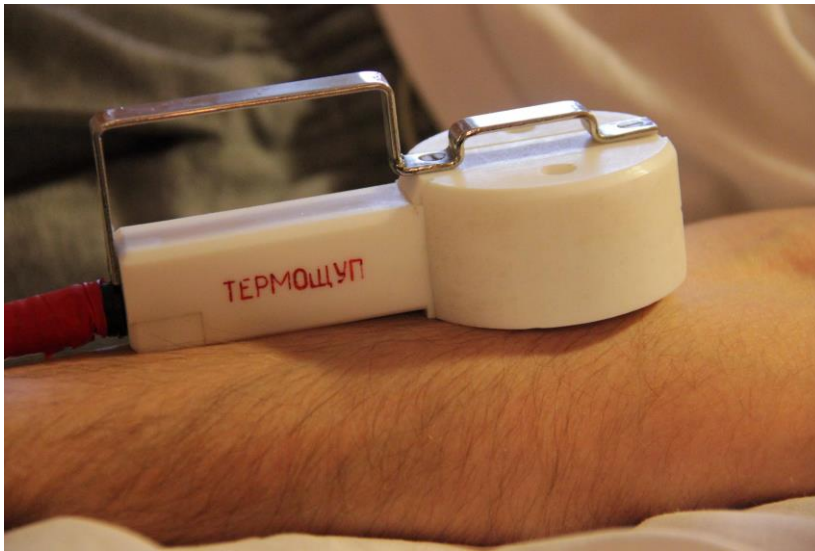


Рисунок 4. Проведение альгометрии.

В фоновом периоде первой экспериментальной серии оценка болевой чувствительности проводилась в положении сидя и лежа. Поскольку различий в получаемых данных выявлено не было, впоследствии, все обследования в фоновом периоде проводили в положении сидя, а в ходе экспериментального воздействия в положении лёжа. Нагревательная пластина располагается свободно без дополнительной фиксации на верхней трети внутренней стороны предплечья. Исследование проводили в первой половине дня (через 30 минут после пробуждения) и во второй половине дня (17.00-18.00 часов).

Основными параметрами, которые оцениваются при проведении данного метода исследования являются:

- температура порога чувствительности;
- температура порога переносимости.

2.2.2 Капилляроскопия ногтевого ложа.

Метод предназначен для исследования состояния микроциркуляции, выявления структурных и количественных изменений капилляров кожи *in vivo*.

Для проведения методики капилляроскопии ногтевого ложа используется капилляроскоп общеклинического применения «Капилляроскан-1» (рисунок 5).



Рисунок 5. Капилляроскоп общеклинического применения «Капилляроскан-1»

Исследование проводится в отраженном свете с применением стереомикроскопа и источника холодного света. Для достижения проницаемости эпидермиса на исследуемый участок наносят небольшое количество иммерсионного масла. Оценивают показатели капиллярного кровотока и размеры отдельных элементов микрососудов:

- визуальная оценка плотности капилляров, формы и размеров;
- поперечный диаметр капилляра в артериальном отделе;
- поперечный диаметр капилляра в венозном отделе;
- поперечный диаметр капилляров в переходном отделе;
- отношение диаметров венозного отдела к артериальному;
- линейная скорость кровотока в различных отделах;
- ширина периваскулярной зоны.

2.2.3 Анализ газового состава крови.

Метод используется для оценки изменений в газовом составе крови.

Данное исследование проводится с использованием анализатора кислотно-щелочного и газового состава крови «ABL80-FLEX».

Для проведения данной методики исследования производили взятие капиллярной и венозной крови. Взятие крови производили в фоновом периоде, утром (через 12 часов после начала АНОГ), после моделирования гиповолемии (через 17 часов после начала АНОГ) и перед завершением эксперимента (21 час АНОГ). Поскольку, одной из задач было определить изменения газообмена в

регионах выше и ниже гидростатически индифферентной точки, венозную кровь брали из кубитальной вены (верхняя конечность) и большая подкожная вена (нижняя конечность) в специальный шприц, который затем помещается в щуп прибора для анализа. Взятие капиллярной крови производили из безымянного пальца руки и среднего или безымянного пальца ноги. Скарификатором делали прокол кожи пальца, кровь набирали в специальный капилляр, который затем помещали в щуп прибора для анализа.

Для анализа газового состава крови использовали величину напряжения углекислого газа ($p\text{CO}_2$, мм рт.ст.) и кислорода ($p\text{O}_2$, мм рт.ст.)

2.2.4 Анализ состава тела и водного баланса по регионам, путем регистрации импедансной реографии («ABC»).

Для оценки степени гиповолемии по регионам использовали импедансную реографию (российский прибор «ABC-01», компании «Медасс») За время эксперимента обследование проводили 4 раза, в тех же временных точках, что и взятие крови для анализа газового состава крови. Обследуемый находился в положении лежа на спине. Руки были расположены вдоль туловища, но не касались его. Ноги были расположены прямо и параллельно и не контактировали друг с другом и с металлическими частями кровати.

На тело обследуемого накладывали 8 одноразовых электродов. Токовые электроды на руках и ногах устанавливали между третьим и четвертым пальцами на тыльной стороне кисти руки или на верхней поверхности стопы так, чтобы электрод находился над промежутком между костями. Потенциальные электроды устанавливаются на дистальных концах предплечья и голени над промежутком между внутренней и внешней мышечками/лодыжками. Токовый и потенциальный электроды на голове устанавливаются над глазами примерно посередине высоты лба симметрично относительно вертикальной оси.

Оценивали перераспределение жидкости в следующих жидкостных компартментах: внеклеточная жидкость (ВКЖ), клеточная жидкость (КЖ) и общая жидкость (ОЖ).

2.3 Модель микрогравитации у крыс.

Антиортостатическое вывешивание (АОВ) у животных является аналогом АНОГ у человека. Существует 2 вида АОВ: хвостовое (рисунок 6) и костюмное (рисунок 7). Мы использовали обе этих модели, в зависимости от задач конкретной экспериментальной серии. Для вывешивания использовали экспериментальный стенд.



Рисунок 6. Хвостовое вывешивание.

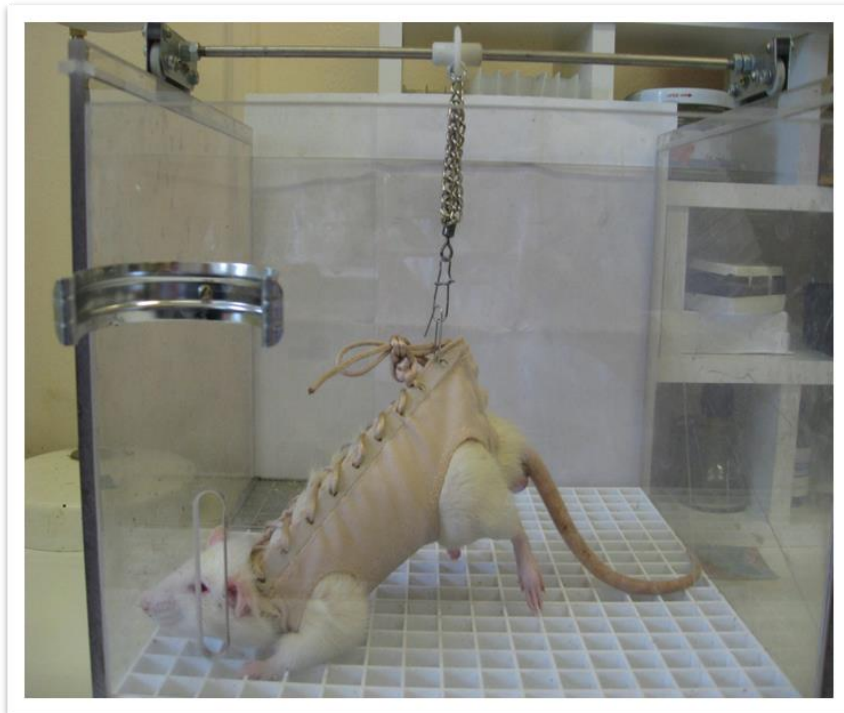


Рисунок 7. Костюмное вывешивание.

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. На спинке животного, в костюме, располагаются две металлические пластины, которые удерживают тело животного от провисания и позволяют придать избранный угол вывешивания для всего тела.

При хвостовом варианте АОВ крысу подвешивали за хвост, обмотанный в середине специальным пластырем, непосредственно к подвижной каретке.

В обоих вариантах задние конечности крысы не касались пола. На передних крыса свободно перемещалась в пределах клетки и постоянно имела доступ к пище и воде.

Конкретные условия экспериментов указаны в соответствующих разделах. Общее описание условий экспериментов на крысах и дополнительные воздействия указаны в таблице 4.

Таблица 4. Общее описание экспериментов на крысах.

Основное воздействие	Дополнительное воздействие	Продолжительность	Количество животных, линейность
АОВ (хвостовое)		21 день	15, Вистар
АОВ (костюмное)	Перитонит	14 дней	80, не линейные
АОВ (костюмное)	Инфаркт головного мозга	14 дней	35, не линейные
АОВ (костюмное)	Травма головного мозга	14 дней	75, Вистар
АОВ (костюмное)	Инфаркт миокарда	14 дней	237, не линейные 151 Вистар

2.4 Методики исследования в экспериментах на крысах.

2.4.1 Методика индукции перитонита у крыс.

Наркоз.

Животное помещали в эксикатор, содержащий ватку, смоченную диэтиловым эфиром. Мониторинг за вхождением животного в наркоз осуществляли путем наблюдения за исчезновением ряда рефлексов. Первым пропадает рефлекс переворачивания. О наступлении хирургической стадии наркоза свидетельствует выпадение пальпебрального и лингвального рефлексов. У крыс даже при ослабленном корнеальном рефлексе, может сохраняться болевая чувствительность. Для этих животных важно проверять «рефлекс сдавливания запястий». Рефлекс проверяют, сильно сдавливая запястья, максимально разводя при этом передние конечности крысы в стороны. Если при этом животное не реагирует, то желаемая степень анестезии достигнута. Во время наркоза следят за паттерном дыхания, мышечным тонусом животного. В состоянии наркоза фиксируют животное к операционному столу и в дальнейшем, по мере надобности, поддерживают глубину наркоза нанесением эфира на маску.

Техника оперативного вмешательства.

Выполняли срединную лапаротомию, продольное сечение толстой кишки на протяжении 0,5 см. Место пересечения – 1 см дистальнее слепой кишки. После этого кишку погружали в свободную брюшную полость и производили послойное ушивание лапаротомной раны непрерывным швом. Операционное поле обрабатывали раствором антисептика, животное перевязывали и помещали в клетку. Через 24 часа после индукции перитонита животных выводили из эксперимента путем декапитации на гильотине.

2.4.2 Методика формирования локальной ишемии головного мозга крысы.

Двусторонний фокальный ишемический инфаркт префронтальной коры головного мозга крыс – поля Fr1 и Fr2 согласно стереотаксическому атласу создавали методом фотоиндуцируемого тромбоза [146, 147]. Общий вид установки для создания очага ишемии представлен на рисунке 8.

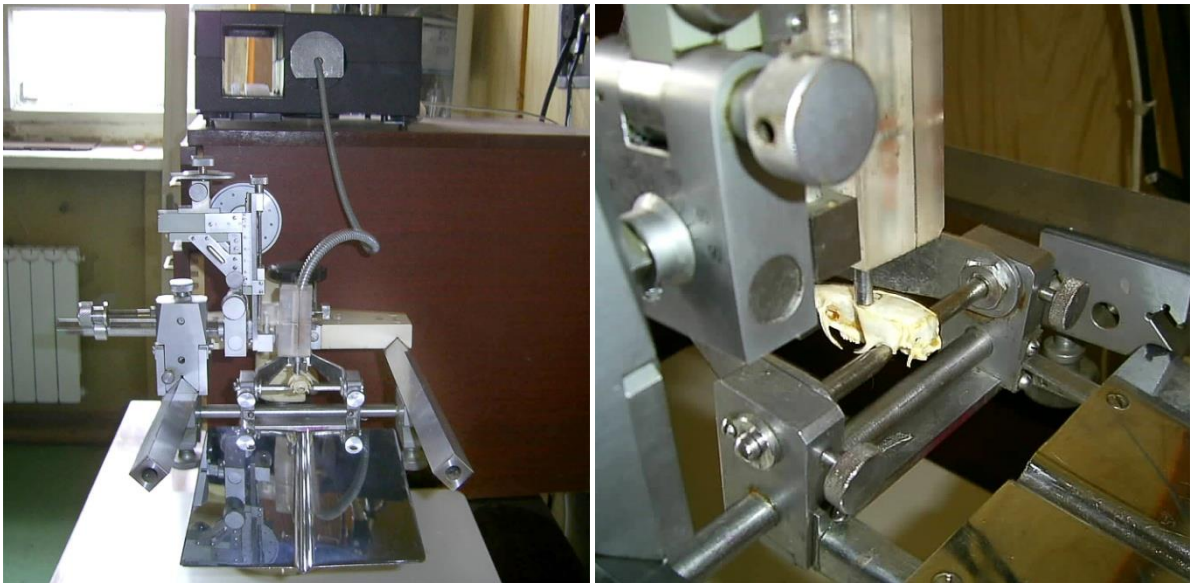


Рисунок 8. Общий вид установки для воспроизведения очага ишемии в коре мозга крысы методом фототромбоза.

Схема метода фотохимического тромбоза и фотографии мозга крыс контрольной и опытной групп представлены на рисунке 9.

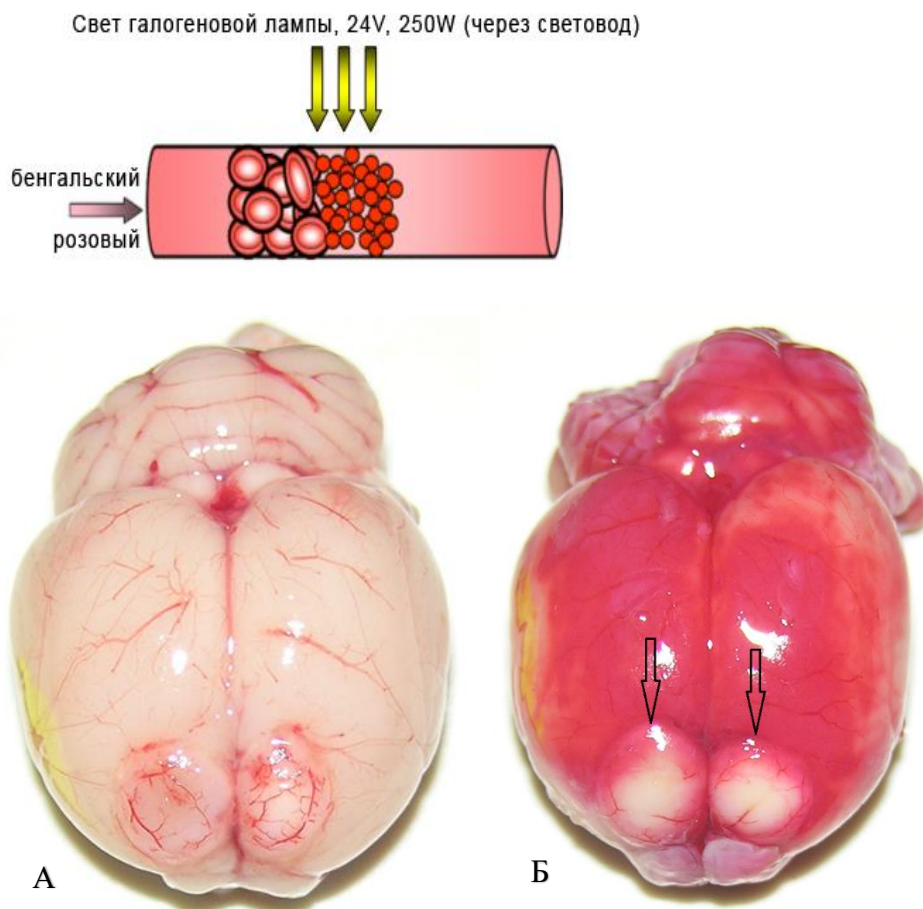


Рисунок 9. Метод фотохимического тромбоза. Схема полей головного мозга крысы. Ишемический инфаркт полей Fr1 и Fr2 (А-контроль, Б-опыт).

Животных наркотизировали хлоралгидратом (300 мг/кг, в/б). Фотосенсибилизируемый краситель бенгальский розовый (Sigma Chem.Co.) вводили в яремную вену (3% раствор, 40 мг/кг). Голову животного фиксировали в стереотаксисе и после продольного разреза кожи удаляли надкостницу. Световод (диаметр светового пучка на выходе 3 мм) устанавливали на расстоянии 1 мм от поверхности черепа по координатам: 2 мм роstralнее брегмы и 2 мм латеральнее сагиттального шва. Облучение холодным светом - $\lambda = 560$ нм (источник – лампа 24В мощностью 250 Вт, охлаждаемая вмонтированным в установку вентилятором) проводили в течение 20 мин с каждой стороны.

Под действием света краситель бенгальский розовый выделяет активные формы кислорода, вызывающие повреждение эндотелия мелких кровеносных сосудов, сопровождающееся образованием тромбов и нарушением кровоснабжения облучаемых участков. Свет длиной волны 560 нм через костную ткань черепа проникает неглубоко и поэтому вызывает повреждение в основном только сосудов коры.

Поля Fr1 и Fr2 префронтальной коры головного мозга крыс были выбраны для проведения исследований, так как они отвечают за выполнение когнитивных функций и существуют объективные физиологические тесты оценки этих функций и их нарушений.

2.4.3 Методика формирования геморрагического некроза/травмы головного мозга крысы.

Модель геморрагического некроза/травмы предусматривала анализ функциональных изменений. Чтобы выполнить это условие животным под эфирным наркозом рассекали кожу по средней линии головы, в операционном поле удаляли надкостницу. Повреждающий объект – трансплантат, вводили в моторную зону коры левого полушария мозга, в участок, ответственный за движение правой передней лапы (поле S1FL) Точные координаты места повреждения определяли по стереотаксическому атласу [146]: от брегмы в роstralном направлении 2мм, от средней линии черепа латерально 4мм, глубина введения 2,5мм. Череп сверлили буром, трансплантат вводили катетерной иглой с ограничителем глубины

погружения. Диаметр иглы - 1,7мм, совпадал с диаметром бура. После введения иглу удерживали в отверстии в течение 3-4 минут для предотвращения вытекания трансплантата. Операция всегда проводилась на левом полушарии, об её успешности судили по парезу правой передней лапы крысы.

Состав трансплантата: измельченная гемостатическая коллагеновая губка российского производства и не содержащая клеток плазма крови кролика породы «шиншилла», либо богатая тромбоцитами плазма (PRP) крови кролика. Объем трансплантата: 300мкл. Вводимый трансплантат представлял смесь равного объема диспергированной в фосфатном буфере (PBS) коллагеновой губки и плазмы. В PRP определяли концентрацию тромбоцитов. В зависимости от этой концентрации объемные соотношения губки и PRP были не строго 50%, а незначительно менялись для создания постоянного числа тромбоцитов в трансплантате: 6×10^7 . PRP получали из цельной крови кролика, взятой из ушной вены в 9% цитрат натрия (9:1) и открученной на центрифуге (900 об/мин, 10 минут, 23° C). Надосадочную часть, которая и являлась PRP, забирали, а оставшуюся часть центрифугировали при 2700 об/мин еще 10 минут (23° C). После второго центрифугирования в надосадке оставалась бесклеточная плазма.

2.4.4 Методика оценки когнитивных функций мозга крыс.

Когнитивные функции мозга крыс исследовали, вырабатывая у них условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ). УРПИ вырабатывали по схеме описанной в работе [148]. Выработку УРПИ осуществляли в челночной камере отечественного производства Биотест РК-5201 (рисунок 10).

Показан переход животного из светлого в темный отсек камеры, где на пол подается в течение 5 сек электрический ток – 1,3 мА, 50 Гц. УРПИ считается выработанным, если при помещении крысы после электрошока в светлый отсек камеры она не переходит в темный в течение 300 сек.

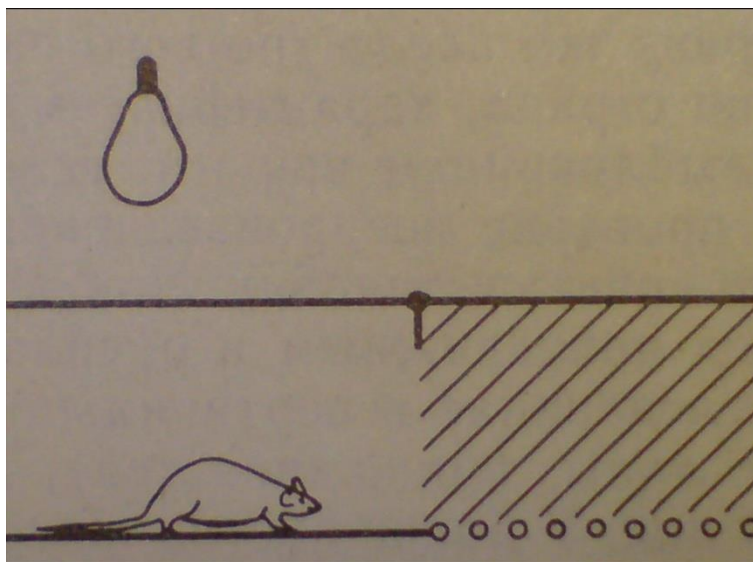


Рисунок 10. Схематическое изображение установки для выработки УРПИ у крыс.

Суть метода основана, во-первых, на физиологической особенности крысы вести сумеречный образ жизни и предпочтение яркому свету места со слабой освещенностью (нора), а, во-вторых, на стремлении животного избегать болезненных ощущений. При этом условный рефлекс на болезненное воздействие может быть очень устойчивым и оказывать значительное тормозное влияние на другие рефлексы. В нашей методике устойчивость УРПИ определялась, так называемым, латентным периодом (ЛП), то есть временем, которое проходило от начала теста до момента пересечения крысой отверстия, разделяющего освещенный и темный отсеки камеры. В первый день обучения крысу помещали в освещенный отсек (лампа мощностью 100Вт), обследовав который, она через некоторое время (ЛП до обучения) переходила в темный отсек, после чего дверь в этот отсек камеры закрывали и оставляли там крысу на 5 минут. Через 1 час процедуру повторяли, но крысу сразу извлекали из темного отсека. На следующий день эту же процедуру повторяли дважды с часовым интервалом. При повторном заходе крысы в темный отсек камеры дверь в него закрывали и через металлические прутья пола пропускали электрический ток (1,3 мА, 50 Гц, 5 с). УРПИ считали выработанным, если ЛП составлял не менее 300 с.

До начала выработки УРПИ оценивать двигательную активность крыс в «открытом поле». Автоматизированная установка РОДЭО-1 позволяет оценивать горизонтальную и вертикальную двигательную активность за 5 минут наблюдения.

По показателям двигательной активности в «открытом поле» формируются идентичные группы. Кроме того, не рекомендуется включать в экспериментальную группу животных с ЛП менее 300 с.

2.4.5 Методика оценки двигательной активности крыс.

Результат влияния травмы головного мозга на функциональное состояние животных оценивали по двигательной активности. Двигательную активность исследовали перед операцией и на 7 день после её проведения полуколичественным методом - увеличением количества начисляемых баллов, соответственно углублению расстройства движений.

Функциональные тесты проводили на установке «Beam walking» для крыс [ООО «НПК Открытая Наука»]. (Рисунок 11). Оценивали частоту соскальзывания правой передней лапки с верхней планки установки на нижнюю и случайный либо систематический характер этих соскальзываний. Использовали следующую шкалу.

Время прохождения установки не более 15 сек. Соскальзывание передних лап носит случайный характер – 1 балл. Такая оценка была у всех контрольных животных и у подопытных крыс перед началом эксперимента.

Систематическое соскальзывание правой передней лапы с верхней планки на нижнюю с постоянной опорой на нее в последней четверти дистанции - 2 балла.

Систематическое соскальзывание правой передней лапы с верхней планки на нижнюю с постоянной опорой на нее во второй половине дистанции – 3 балла.

Передвижение по стреле с хромотой. Систематическое соскальзывание правой передней лапы с верхней планки на нижнюю на всей дистанции – 4 балла.

Передвижение по стреле с явно выраженной хромотой. Избегание опоры на правую переднюю лапу. Перенос опоры при движении на левую половину тела – 5 баллов.

Правая передняя конечность недееспособна. Животное теряет равновесие, замирает на установке и дрожит. Остановки продолжительностью более 6 минут – 6 баллов.



Рисунок 11. Исследование двигательной активности в установке «Beam walking».

2.4.6 Лабораторные методы исследования в экспериментах с крысами.

Для оценки морфологических изменений в ЦНС при инфаркте мозга и травме использовали методы световой и электронной микроскопии и автордиографическое исследование.

Использовали полутонкие (1 мкм) и тонкие (500 Å) срезы. Полутонкие срезы окрашивали толлуидиновым синим. Поскольку толлуидиновый синий удовлетворительно окрашивает ткань мозга только при заметных деструктивных изменениях её, окраску проводили ещё и по оригинальной методике окраски полутонких срезов без удаления эпоксидной смолы, разработанной в лаборатории проф. Пальцына А.А. (НИИ общей патологии и патофизиологии) [149].

Отбор и обработка крови у крыс.

Забор крови

Для проведения клинического и биохимического исследования крови немедленно после декапитации собирали кровь (6-8 мл) в гепаринизированную пробирку. Закрывали пробирку крышкой и медленно переворачивали на 180° пять

раз для перемешивания крови и гепарина. Автоматической пипеткой переносили по 0,5 мл цельной крови в пробирку с хлорной кислотой и в пробирку с ЭДТА-фторидом. Закрыв пробками, тщательно перемешивали не встряхивая. Пробирку с гепаринизированной цельной кровью немедленно после отбора тщательно закрывали крышкой.

Обработка крови.

Центрифугировали пробирку с цельной гепаринизированной кровью и пробирку с кровью, содержащую ЭДТА-фторид (серая крышка), 10 мин при 3000 об/мин и температуре +4 - +8°C.

Разлив и хранение плазмы крови.

Гепаринизированную плазму крови разливали в пробирки типа “Эппендорф” 0,8 мл в одну и 0,2 мл в другую. Из пробирки, содержащей ЭДТА-фторид, отбирали всю плазму и переносили в пробирку типа “Эппендорф”. Пробирки с плазмой замораживали и хранили при температуре -20°C до проведения исследования.

Биохимический анализ крови.

В гепаринизированной плазме крови крыс стандартными коммерческими наборами производства фирмы “DiaSys”, Германия, определяли активность аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), общей амилазы, а также концентрацию общего белка, альбумина, креатинина, мочевины и бикарбоната. Наборами фирмы “Randox”, Великобритания, измеряли активность общей липазы. Концентрацию общего и прямого билирубина определяли наборами фирмы “Эко-сервис”, Россия. Для измерений использовали биохимический автоанализатор “Targa BT 3000” фирмы “Biotechnica Instruments”, Италия. Уровень калия измеряли на ионселективном анализаторе “EasyLite”, фирмы “Медика”, США.

Гистологическая техника.

Для морфологического исследования экспериментальных животных при перитоните декапитировали гильотиной для лабораторных животных (Open Science) и извлекали интересующие органы (поджелудочная железа с участком

двенадцатиперстной кишки и часть печени). Материал фиксировали и готовили парафиновые срезы.

Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином (Biovitrum) по стандартной методике. Препараты просматривали в световом микроскопе фирмы Olympus (Япония) под различными увеличениями, изображения регистрировали фотокамерой Color View II с программой компьютерного анализа Cell F.

2.4.7 Методика формирования острого инфаркта миокарда у крыс.

Для моделирования острого инфаркта миокарда использовали две модели: моделирование методом коронарной окклюзии и введением изопротеринола. Описание методики формирования инфаркта миокарда обоими методами приведено в главе 6.

2.5 Биоэтические вопросы.

Эксперименты на крысах проведены в соответствии общими этическими принципами проведения экспериментов на животных, согласованными с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» (2003).

Программы исследований на животных были утверждены комиссиями по биомедицинской этике НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН и ФГБУ ФНКЦ ФМБА России.

Программы экспериментов с участием испытателей-добровольцев, включая все процедуры и методики исследований, были обсуждены и одобрены Комиссиями по биомедицинской этике при ГНЦ РФ ИМБП РАН и ФГБУ ФНКЦ ФМБА России. От испытателей, принимавших участие в экспериментах, получено письменное информированное согласие.

2.6 Статистическая обработка данных.

Предварительная подготовка данных осуществлялась с помощью программы обработки электронных таблиц «Microsoft Excel», где были сформированы таблицы, соответственно исследуемым показателям. Нормальность выборок проверяли по критерию Шапиро-Уилка. Межгрупповые сравнения проводили с использованием критериев Вилкоксона, Манна-Уитни и Данна. Выбранные

статистические методы указаны в соответствующих разделах с результатами исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ГЛАВА 3. ОСОБЕННОСТИ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭФФЕКТОВ МИКРОГРАВИТАЦИИ

Болевая чувствительность является неотъемлемым звеном большинства патологических процессов. Изменения болевой чувствительности могут вносить коррективы не только в клиническую картину заболевания или травмы в условиях космического полета, но и потребовать корректировки лечебных мероприятий в части обезболивания.

Особенности болевой чувствительности в условиях моделирования эффектов микрогравитации мы исследовали как на лабораторных животных (крысы), так и в экспериментах с участием человека.

3.1 Болевая чувствительность в условиях моделирования микрогравитации у лабораторных животных.

3.1.1 Протокол исследований.

В исследовании на экспериментальных животных использовали 60 крыс самцов линии Вистар, массой 230-250г. Крысы были разделены на две группы: экспериментальную и виварийный контроль. Эксперимент проводили в 2 серии. В обеих сериях экспериментальная группа крыс подвергалась антиортостатическому вывешиванию (АОВ) в течение 21 дня. В данном эксперименте использовали хвостовое вывешивание на специальном стенде по вышеописанной методике [150, 151]. Отличия между двумя сериями заключались в кратности исследования порога реакции на болевой раздражитель. В первой серии определяли порог болевой реакции (ПБР) в фоновом периоде, на 21-е сутки, непосредственно после окончания вывешивания, и на 7-е сутки реадаптации после окончания эксперимента. Во второй экспериментальной серии помимо определения ПБР непосредственно перед началом вывешивания и сразу после окончания дополнительно проводили промежуточные измерения порога реакции на болевой раздражитель на 3, 7, 14-е сутки вывешивания.

Крысы содержались в отдельных клетках при постоянной температуре воздуха, свободном доступе к воде и пище. Измерение ПБР проводили в

стандартных условиях в первой половине дня, в одно и то же время. Крыс по очереди помещали в экспериментальную установку «Альгометр», создающую болевой стимул по методу «hot plate», и состоящую из нагреваемой пластины, блока управления и блока фиксации температуры. Пластина нагревалась от комнатной температуры, при температуре помещения 23-25 °C с постоянной скоростью в 2,5 °C/мин. ПБР крысы на болевой стимул являлась температура нагреваемой пластины, при которой животное начинало проявлять признаки беспокойства: проявляло повышенную двигательную активность, облизывало лапы. Первичная статистическая обработка экспериментальных данных включала оценку полученных выборок на нормальность распределения (в каждой из выборок распределение оказалось отличным от нормального (по критерию Шапиро-Уилка с $p < 0,05$)), а также вычисление описательных статистик первой (таблица 5) и второй (таблица 6) экспериментальных серий. Для оценки различий показателя болевой чувствительности между группами на различных этапах исследований использовали непараметрический критерий Манна-Уитни для независимых выборок.

3.1.2 Результаты исследования.

Показатели порога болевой реакции у крыс в двух экспериментальных сериях представлены в таблицах 5 и 6.

Таблица 5. Показатели порога болевой реакции (t°C). Описательная статистика данных 1-й экспериментальной серии.

	Н набл.	Среднее	Медиана	Нижний Квартиль	Верхний Квартиль	Стд.откл.	Станд. Ошибка
Группа "Виварийный контроль" (Фон)	15	47,08	47,10	46,70	47,50	0,48	0,12
Группа "Эксперимент" (Фон)	15	47,38	47,20	46,80	47,60	0,84	0,22
Группа "Виварийный контроль" (21 сутки)	15	47,11	47,20	46,80	47,30	0,33	0,09

Группа "Эксперимент" (21 сутки)	15	49,67 *	49,60 *	49,00	50,40	1,28	0,33
Группа "Виварийный контроль" (+7 сутки)	15	47,76	47,70	47,10	48,50	0,75	0,19
Группа "Эксперимент" (+7 сутки)	15	46,63 *	46,70 *	46,10	46,90	0,63	0,16

*- статистически значимые отличия по сравнению с показателем в группе виварийного контроля в той же точке ($p < 0,05$).

Таблица 6. Показатели порога болевой реакции ($t^{\circ}\text{C}$). Описательная статистика данных 2-й экспериментальной серии.

	N набл.	Среднее	Медиана	Нижний Квартиль	Верхний Квартиль	Стд. откл.	Станд. Ошибка
Группа "Виварийный контроль" (Фон)	15	47,87	47,60	46,90	48,50	1,08	0,28
Группа "Эксперимент " (Фон)	15	48,57	48,30	47,90	49,20	0,72	0,18
Группа "Виварийный контроль" (3-и сутки)	15	47,72	47,70	47,40	48,00	0,50	0,13
Группа "Эксперимент " (3-и сутки)	15	49,53 *	49,70 *	48,50	49,90	0,85	0,22
Группа "Виварийный контроль" (7-е сутки)	15	47,51	47,30	46,90	48,20	0,91	0,23
Группа "Эксперимент " (7-е сутки)	15	49,23 *	49,20 *	48,80	49,50	0,97	0,25
Группа "Виварийный контроль" (14- е сутки)	15	47,58	47,70	47,10	48,00	0,68	0,18
Группа "Эксперимент " (14-е сутки)	15	50,09 *	50,10 *	49,50	50,20	0,67	0,17
Группа "Виварийный контроль" (21- е сутки)	15	47,49	47,50	47,20	47,70	0,44	0,11

Группа "Эксперимент " (21-е сутки)	15	50,32 *	50,30 *	49,50	51,20	1,44	0,37
--	----	---------	---------	-------	-------	------	------

*- статистически значимые отличия по сравнению с показателем в группе виварийного контроля в той же точке ($p < 0,05$).

В обеих экспериментальных сериях различия в фоновых исследованиях между экспериментальной группой и группой виварийного контроля не значимы. Однако, после воздействия АОВ в течении трёх недель, ПБР у экспериментальных животных статистически значимо возрос более чем на 2°C , а в реадaptационном периоде через 7 суток после завершения АОВ не просто снизился до фоновых значений, но оказался ниже фона (рисунок 12).

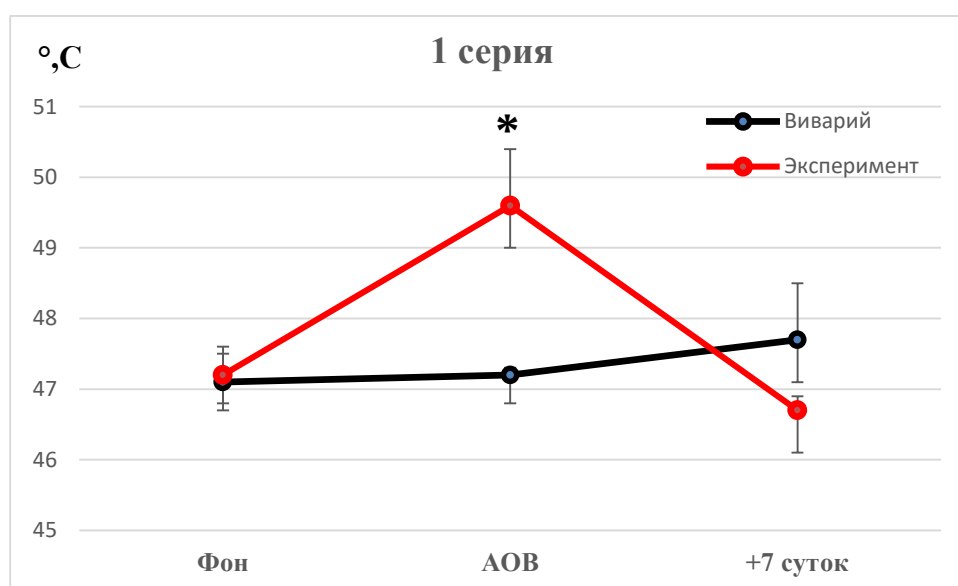


Рисунок 12. Динамика значений ПБР в 1-й экспериментальной серии.

Во второй экспериментальной серии, когда помимо измерения на 21-е сутки АОВ, измеряли динамику ПБР в ходе проведения антиортостаза, отмечена сходная с 1-й серией динамика. ПБР постепенно нарастал от первого дня к 21-му и значимо отличался от контрольной группы уже к 3-им суткам АОВ (рисунок 13).

На изменение порога реакции у крыс под воздействием моделированных эффектов микрогравитации, возможно, оказывают влияние как центральные, так и локальные механизмы, ассоциированные с болевой чувствительностью.

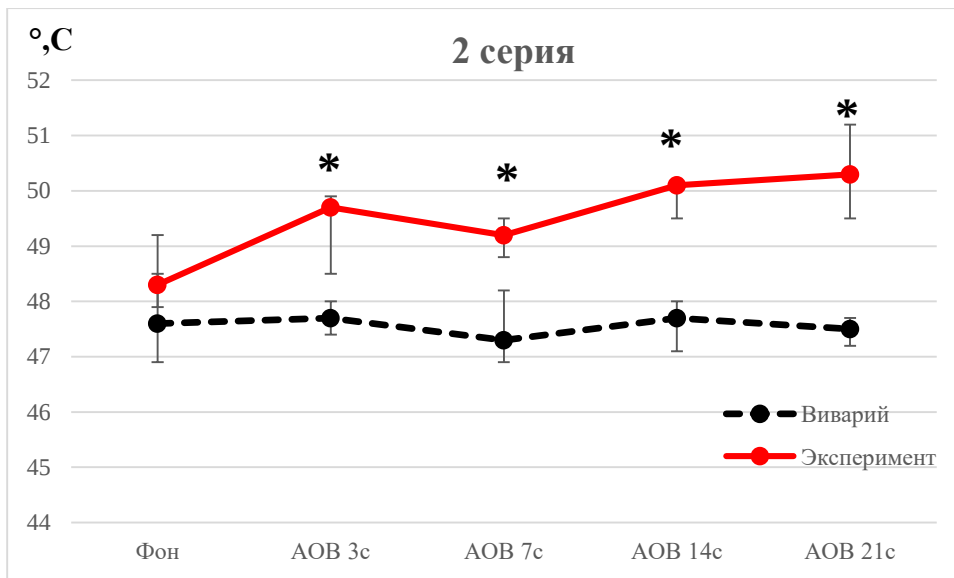


Рисунок 13. Динамика значений ПБР во 2-й экспериментальной серии.

К центральным механизмам относится стрессиндуцированная анальгезия. В экспериментах с моделированием хронического стресса у крыс, не связанного с микрогравитацией, показано увеличение устойчивости к болевым стимулам [152,153]. Стрессорное воздействие может вызывать как ослабление болевой чувствительности, так и ее усиление [154]. Наиболее частым и более исследованным ответом на стресс является анальгезия, которая может опосредоваться как опиоидными, так и не опиоидными механизмами [155]. Центральным звеном противоболевой системы является центральное серое вещество среднего мозга [156]. Увеличение продукции гормонов конечного звена гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГТАКС) при стрессе стимулирует нейроны центрального серого вещества среднего мозга, приводя к развитию анальгезии [157]. Ранее было продемонстрировано, что как условия космического полета, так и модельные эксперименты на животных (хвостовое вывешивание) приводят к развитию всех проявлений стрессорной реакции [158,159]. На наличие острого стресса у животных в нашем исследовании указывает появление геморагий в области носа, проходивших к концу 3-х суток и задержка возрастного увеличения массы тела в сравнении с контролем. На 21-е сутки эксперимента средняя масса тела животных экспериментальной и виварийной групп составляла соответственно $280 \pm 18,7$ и $322,3 \pm 16,3$ гр.

В исследованиях других авторов показано, что после вывешивания у крыс происходят морфологические изменения в центральных структурах головного мозга. В условиях АОВ крупные пиальные артерии поверхности головного мозга, особенно на его основании, а также мелкие экстрацеребральные артерии характеризуются признаками спазма, а также повышенной складчатости внутренней эластичной оболочки [160]. Изменения мозгового кровотока, имеющие место в АОВ, нельзя исключать, как один из возможных факторов, влияющих на центральные структуры ноцицептивной системы, и изменяющих восприятие болевых импульсов.

К механизмам, влияющим на изменения болевой чувствительности, можно отнести снижение афферентной импульсации от задних конечностей крыс в ходе вывешивания. В эксперименте на биоспутнике «Космос-782» показано, что в условиях микрогравитации происходит изменение метаболизма первичных чувствительных нейронов спинномозговых ганглиев. [158]. Возможно, снижение афферентной импульсации приводит к изменениям не только в первичных чувствительных нейронах, но и в ноцицептивных нейронах, также располагающихся в спинномозговых узлах. В этом случае к действию гормонов ГТАКС добавляется и анальгетический эффект прямого влияния вывешивания на ноцицептивные нейроны спинномозговых ганглиев.

3.2. Болевая чувствительность в условиях моделирования микрогравитации у человека.

3.2.1. Протокол исследования 1 экспериментальной серии.

Исследование проводили с участием 40 испытуемых-добровольцев, мужского пола, 20-35 лет. В качестве моделей микрогравитации использовали антиортостатическую гипокинезию (АНОГ) с углом -15° и «сухую» иммерсию (СИ). Динамику изменения порога болевой чувствительности (ПБЧ) у испытуемых оценивали в трех экспериментальных сериях с АНОГ и в одной серии «сухой» иммерсии. Продолжительность воздействий, моделирующих микрогравитацию, составляла 21 час как для АНОГ, так и для иммерсии. Воздействие начинали в 21.00 и завершали в 18.00 следующего дня.

Для оценки влияния моделированной микрогравитации на ПБЧ оценивали показатели ПБЧ в точках: «Фон», «Утро (АНОГ)», «Утро (Контроль)», «Вечер (АНОГ)», «Вечер (Контроль)». Исследования в тех же точках проводили и в серии с СИ. Для статистической обработки результаты фоновых измерений в СИ и АНОГ были объединены. Поскольку распределение некоторых выборок отличалось от нормального, в качестве параметров описательной статистики использовали: число наблюдений, медиану выборки, нижний и верхний квартили (таблица 7). Для оценки статистической значимости отличий между выборками данных использовали непараметрический критерий Манна-Уитни для независимых выборок. Статистически значимым считали уровень - $p < 0,05$.

Таблица 7. Сравнение динамики ПБЧ в группах АНОГ и «сухой» иммерсии

Точка	N наб л.	Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль	Сравнение с «Фон»	Сравнение с «Контроль» в той же точке
Фон	114	45,70	44,50	47,50	-	-
Утро (АНОГ)	40	45,25**	43,95	46,70	$p=0,140183$	$p=0,000031$
Утро (Иммерсия)	18	46,05**	45,10	46,50	$p=0,630699$	$p=0,000581$
Утро (Контроль)	36	47,70*	46,35	49,30	$p=0,000121$	-
Вечер (АНОГ)	57	45,20*,**	43,80	46,40	$p=0,020347$	$p=0,000161$
Вечер (Иммерсия)	20	46,50	44,35	47,35	$p=0,868579$	$p=0,215078$
Вечер (Контроль)	36	47,05	45,60	47,75	$p=0,062071$	-

*- изменения значимы по сравнению с объединенной точкой «ФОН»

** - изменения значимы по сравнению с контрольной группой в данной точке

3.2.2 Результаты 1 экспериментальной серии.

При анализе полученных результатов, в первую очередь, обращает на себя внимание динамика ПБЧ в контрольной группе испытуемых. Она характеризуется достоверным повышением порога в утренние часы (рисунок 14).

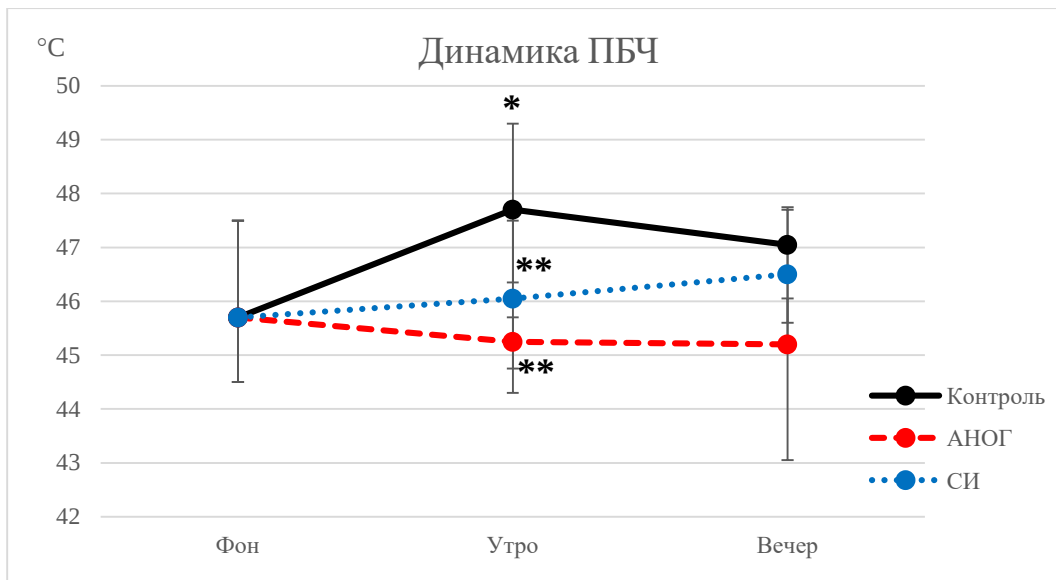


Рисунок 14. Динамика изменения ПБЧ (медиана, квантили 25%-75%),

* - Статистически значимые изменения по сравнению с фоном ($p < 0,05$),

** - статистически значимые изменения по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

По всей видимости, это связано с влиянием на температурную болевую чувствительность у человека циркадианных ритмов. В ряде работ указывается на различную по интенсивности реакцию живых организмов на любое воздействие в разное время суток. В многочисленных исследованиях, как у нас в стране, так и за рубежом, на экспериментальных объектах различных эволюционных уровней, получены факты подтверждающие это положение [161]. В исследованиях Lampert D.H. (1953) показано, что температуру 42° (горячая ванна) в утренние часы пациенты переносят без труда, в то время как после обеда чувствительность к температурным воздействиям резко возрастает и для переносимости подобной процедуры необходимо добавлять обезболивающие [162]. Возможно это связано с суточными колебаниями секреции кортикотропин-рилизинг-гормона (КРГ), а следовательно и адренокортикотропного гормона (АКТГ). Высвобождение АКТГ приводит к активации надпочечников и повышению в крови уровня кортизола. Этот циркадианный ритм в норме настроен так, чтобы обеспечивать увеличение кортизола в крови после засыпания. Во время сна уровень кортизола продолжает возрастать, достигая пика вскоре после пробуждения, затем постепенно падает до минимальных величин к концу дня и в ранние вечерние часы [163].

Недавние исследования Khan S.A. с соавт. показали, что суточные колебания болевой чувствительности могут быть связаны с колебаниями взаимодействия медиальной части префронтальной области коры головного мозга с цингулярной и окципитальной корой, вентромедиальной областью префронтальной коры, гиппокампом и миндалинами [164].

Таким образом, динамика ПБЧ в контрольной группе испытуемых, соответствует предполагаемой динамике этого показателя, исходя из суточных колебаний глюкокортикоидов в крови здорового человека.

У испытуемых, подвергшихся воздействию АНОГ и «сухой» иммерсии, утренний подъем ПБЧ отсутствует (рис. 14)

Если предположить, что одним из ведущих факторов, определяющим уровень болевой чувствительности и, соответственно, ее порог у испытуемых, является уровень кортизола, то для объяснения выявленного факта существует два возможных механизма. Во-первых, нарушение циркадианных ритмов уровня глюкокортикоидов и отсутствие ночного подъема кортизола с выраженным максимумом в утренние часы. Второй механизм связан со снижением базового уровня кортизола, при сохраненной суточной динамике колебаний его концентрации в крови. Второй механизм, представляется маловероятным, поскольку по данным литературы экспериментальные исследования как в АНОГ, так и в «сухой» иммерсии, сопровождаются увеличением уровня глюкокортикоидов в крови [165,166,167]. Косвенно, первый механизм выявленных изменений подтверждает и тот факт, что мы не видим существенной динамики ПБЧ через 20 часов АНОГ по сравнению с фоном. В то время, как при снижении базового уровня кортизола можно было бы ожидать увеличения болевой чувствительности в вечерние часы, сопровождающееся снижением ПБЧ.

Кроме указанных выше механизмов, отсутствие физиологического утреннего подъема ПБЧ у испытуемых может быть вызвано нарушениями сна в непривычных (АНОГ, СИ) условиях. Известен факт того, что депривация сна понижает порог болевого восприятия в ответ на термический раздражитель [168] и вполне может

привести к нивелированию утреннего физиологического подъема ПБЧ до фоновых значений.

Для сравнительной оценки влияния на болевую чувствительность у испытуемых перераспределения крови в краниальном направлении и колебаний уровня кортизола была проведена дополнительная серия исследований, в которой оценивали ПБЧ и порог болевой переносимости (ПБП).

3.2.3 Протокол 2 экспериментальной серии.

Во втором исследовании приняли участие 11 здоровых мужчин, в возрасте от 18 до 35 лет. В данном случае в качестве модели микрогравитации была использована АНОГ продолжительностью три недели (21 день).

Первые 5 суток эксперимента все 11 испытуемых были объединены в одну группу и находились в АНОГ -6° . С 6 суток они были разделены на 2 группы. 1-я группа (5 человек) все время находилась в АНОГ -6° , 2-я группа в дневное время находилась в ортостатической гипокинезии (ОГ) $+9,6^\circ$, в ночное время (с 23.00 до 07.00) в горизонтальном положении до конца эксперимента.

Болевую чувствительность оценивали по той же методике, добавив дополнительный показатель – порог болевой переносимости (ПБП). После фиксации испытуемым величины ПБЧ, горячую пластину не убирали, температура нарастала и пластину убирали, когда испытуемый оценивал боль, как нестерпимую. Для безопасности испытуемых максимальную температуру нагрева устанавливали на 50°C .

Кроме того, в данной серии исследований регистрацию проводили не на пальмарной поверхности кисти, а на тыльной стороне средней трети предплечья. Это обусловило более низкие, по сравнению с кистью, значения ПБЧ.

3.2.4 Результаты 2 экспериментальной серии.

Результаты 2 экспериментальной серии представлены в таблице 8.

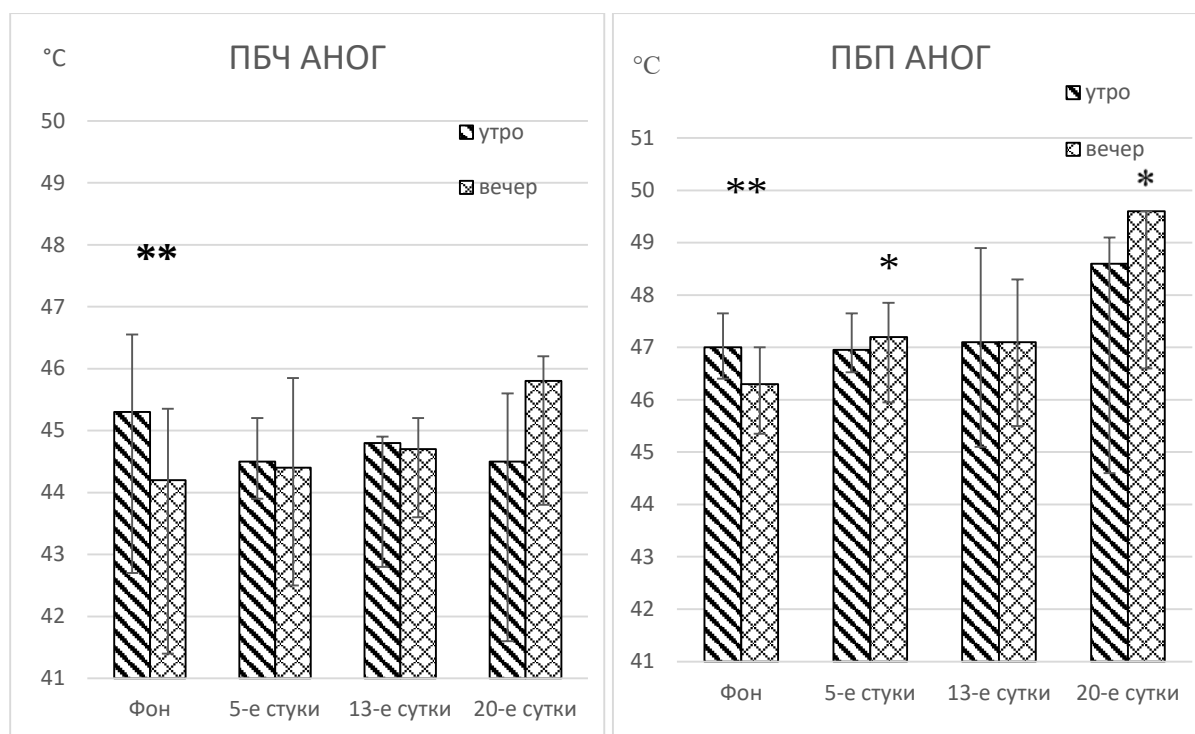
Таблица 8. Сравнение динамики ПБЧ и ПБП в группах АНОГ и ОГ.

Точка	Воздействие	Время	Параметр	Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль	Статистическая значимость
Фон	Фон	Утро	ПБЧ	45,3	42,7	46,55	
			ПБП	47	46,4	47,65	

		Вечер	ПБЧ	44,2	41,4	45,35	
			ПБП	46,3	45,35	47	**
5 сутки	АНОГ	Утро	ПБЧ	44,5	43,9	45,2	
			ПБП	46,95	46,52	47,65	
		Вечер	ПБЧ	44,4	42,5	45,85	
			ПБП	47,2	45,95	47,85	*
13 сутки	АНОГ	Утро	ПБЧ	44,8	42,8	44,9	
			ПБП	47,1	45,1	48,9	
		Вечер	ПБЧ	44,7	43,6	45,2	
			ПБП	47,1	45,5	48,3	
	ОГ	Утро	ПБЧ	45,65	45,025	45,9	
			ПБП	47,55	47,075	48,175	***
		Вечер	ПБЧ	45,3	45,025	45,95	
			ПБП	47,15	46,9	48,525	*
20 сутки	АНОГ	Утро	ПБЧ	44,5	41,6	45,6	
			ПБП	48,6	44,6	49,1	
		Вечер	ПБЧ	45,8	43,8	46,2	
			ПБП	49,6	46,6	49,6	*
	ОГ	Утро	ПБЧ	45,6	45,075	45,975	
			ПБП	47,9	47,175	49,45	*,***
		Вечер	ПБЧ	45,1	44,425	45,85	
			ПБП	47,4	47,125	48,35	**

* - по сравнению с фоном ($p < 0,05$), ** - по сравнению с утром/вечером ($p < 0,05$), *** - по сравнению с 5 сутками ($p < 0,05$).

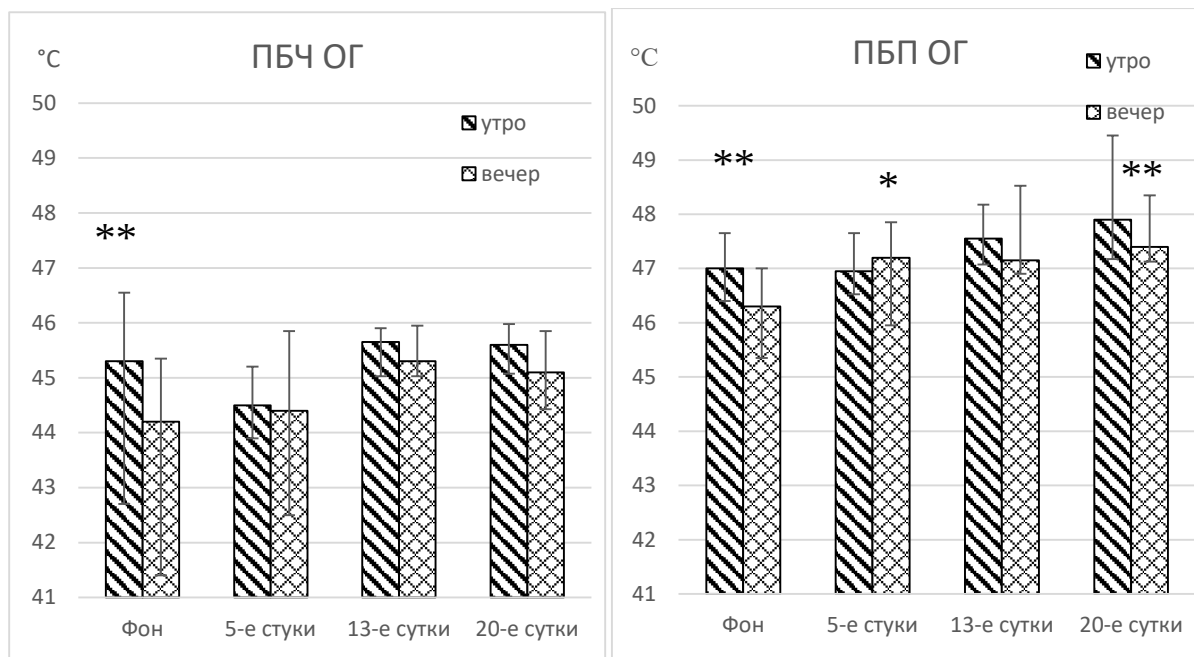
На 5 сутки АНОГ -6°, мы видим схожую динамику как ПБЧ, так и ПБП у испытуемых. Разница между утренними и вечерними значениями порогов болевой чувствительности исчезает (рисунок 15), как и в 1 серии исследований с коротким воздействием АНОГ и СИ. При этом отмечено статистически значимое увеличение ПБП вечером на 5-е сутки ($p < 0,05$).



* - по сравнению с фоном ($p < 0,05$), ** - по сравнению с утром/вечером ($p < 0,05$)

Рисунок 15. Динамика ПБЧ и ПБП в группе АНОГ -6°.

С 6 суток 6 испытуемых были переведены в ортостатическую гипокинезию с положительным углом наклона кровати +9,6°. На 13 сутки гипокинезии, как с положительным, так и с отрицательным углом наклона разница между утренними и вечерними значениями ПБЧ и ПБП отсутствовала. К 20 суткам гипокинезии в группе ОГ отмечено возвращение разницы между утренними и вечерними значениями порогов болевой чувствительности к фоновому уровню с более высокими порогами в утренние часы (рисунок 16). В группе АНОГ, наоборот, вечерние значения порогов выросли и ПБП достоверно превысил значения в фоне и на 13 сутки.



* - по сравнению с фоном ($p < 0,05$), ** - по сравнению с утром/вечером ($p < 0,05$)

Рисунок 16. Динамика ПБЧ и ПБП в группе ОГ +9,6°.

Таким образом, если представить на графиках разницу между утренней и вечерней температурой ПБЧ и ПБП, то мы увидим, что после перевода 6 испытуемых в ОГ динамика этих показателей сменилась на противоположную (рисунок 17).

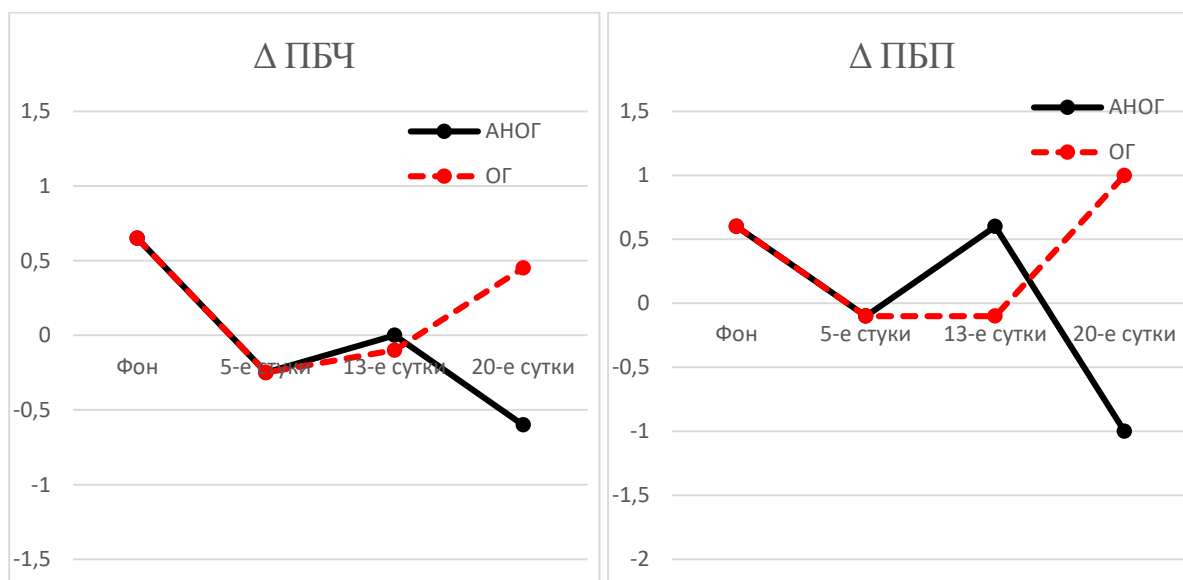
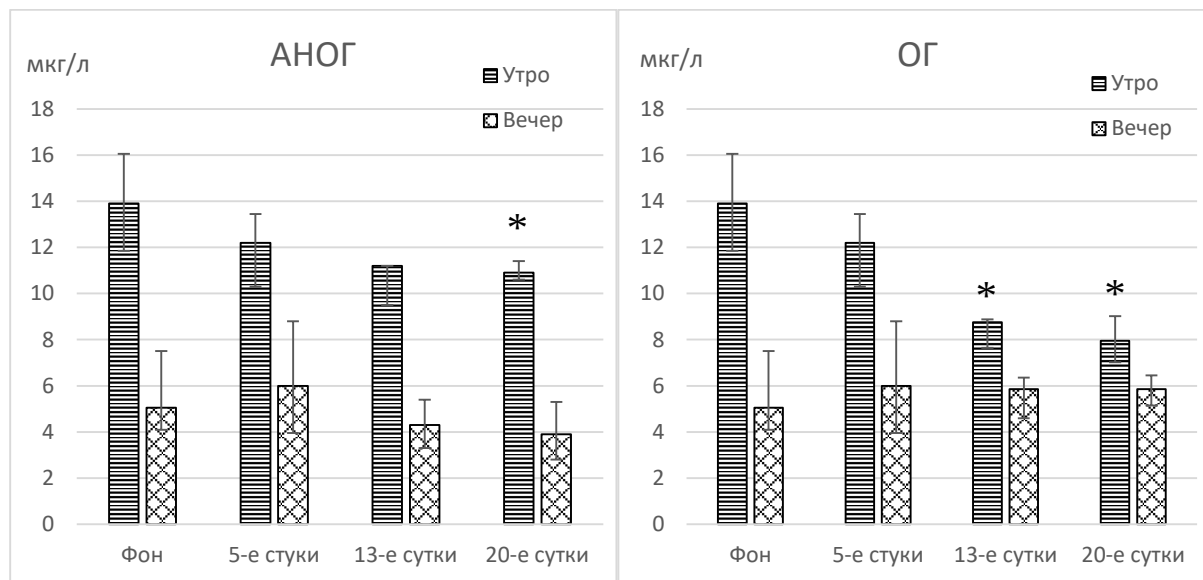


Рисунок 17. Динамика разницы (Δ) ПБЧ и ПБП в ходе эксперимента в группах АНОГ (-6°) и ОГ (+9,6°).

Для оценки влияния кортизола на пороги болевой чувствительности параллельно с тестированием проводили забор венозной крови и определяли уровень кортизола в плазме крови. Динамика кортизола в течение эксперимента по группам представлена на рисунке 18.



* - по сравнению с фоном ($p < 0,05$)

Рисунок 18. Динамика утренней и вечерней концентрации кортизола в ходе эксперимента в группах АНОГ (-6°) и ОГ ($9,6^\circ$).

Динамика концентрации кортизола в обеих группах сходная и выражается в статистически значимом снижении утренней концентрации в ходе гипокинезии.

Таким образом, по результатам двух экспериментальных серий мы определили, что гипокинезия как ортостатическая, так и, в большей степени, антиортостатическая влияет на восприятие болевых стимулов. В первую очередь, можно отметить статистически значимое влияние АНОГ на суточную динамику болевой чувствительности, выражающуюся в нивелировании суточной разницы порогов болевой чувствительности по ходу гипокинезии. В большей степени это связано с ростом значений порогов в вечернее время. ПБП вечером в группе АНОГ к 20 суткам статистически значимо превышает фоновые значения. Сходная динамика с увеличением порога болевой реакции отмечена и в эксперименте с крысами.

В то же время, концентрация кортизола вечером не меняется в течение всего эксперимента. Значимое снижение утреннего уровня кортизола к 20 суткам эксперимента, в свою очередь, не влияет на показатели болевой чувствительности. Можно предположить, что гипокинезия и иммерсия влияют на болевую чувствительность не через систему гипоталамо-гипофизарных гормонов. В группе испытуемых, переведенной в ортостатическое положение, но сохранившей общий постельный режим, динамика порогов болевой чувствительности возвращается к контрольным уровням. Вероятно ведущую роль, в этом играет перераспределение жидких сред в краниальном направлении, изменения мозгового кровотока в зоне среднего мозга и подкорковых структур ответственных за болевую чувствительность.

Более детальное изучение механизмов этого влияния требует проведения дополнительных специальных исследований.

ГЛАВА 4. ВОСПАЛЕНИЕ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭФФЕКТОВ МИКРОГРАВИТАЦИИ

Воспаление является одним из типовых патологических процессов и неотъемлемой частью большинства заболеваний. В нашем исследовании мы рассматривали воспаление на примере воспалительного процесса в брюшной полости (перитонит) и забрюшинном пространстве (панкреатит).

4.1 Моделирование перитонита.

Исследования выполнили на 80 белых беспородных крысах одного возраста (2-3 месяца) с массой 240-330 грамм. Животные находились в стандартных условиях с постоянной температурой окружающей среды 23-25°C, при световом режиме воспроизводящем чередование дня/ночи, на стандартном рационе питания и были прооперированы в одинаковых временных рамках. Все животные были разделены на 4 группы по 20 особей в каждой. 1-я группа виварийный контроль (группа сравнения); 2-я группа антиортостатическое вывешивание (АОВ); 3-я группа перитонит; 4-я группа сочетание АОВ+перитонит. АОВ производилось на специальном стенде на срок 14 дней (вариант костюмного вывешивания) с последующим формированием перитонита. После индукции бактериального инфекционного процесса крысы 3 и 4 группы находились в условиях вивария ещё 24 часа. Таким образом, животных всех четырех групп выводили из исследования на 16 сутки.

Диагноз перитонита считался подтверждённым при обнаружении 2 и более симптомов: парез желудочно-кишечного тракта (с увеличением диаметра кишки более чем в 1,5 раза, по сравнению с кишкой у крыс контрольной группы), гиперемия брюшины с расширением сосудистой сети, наличие перитонеального выпота и наслоения фибрина на париетальную и висцеральную брюшину.

Сравнение тяжести течения воспалительного процесса проводили по динамике биохимических показателей крови и морфологическим изменениям печени и поджелудочной железы.

Для морфологического 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. Препараты окрашивали гематоксилин-эозином (Biovitrum) и толуидиновым синим по стандартной методике [169].

Образцы крови анализировали по вышеописанной методике.

Полученные данные обрабатывали с использованием методов вариационной статистики. Процедура анализа числовых значений имела следующий вид: на первом этапе проводили оценку данных на нормальность распределения. В связи с асимметричным распределением применяли непараметрический критерий Крускала-Уоллиса и рассчитывали значения для каждого параметра.

При выявлении статистически значимых различий, производили межгрупповые сравнения по методу Данна для множественных выборок разного объема.

4.2 Клинические проявления и анализ перитонеального экссудата

Животных перед началом эксперимента и перед выведением из эксперимента взвешивали (таблица 9).

Таблица 9. Масса животных (гр.) по экспериментальным группам.

Точка	Параметр	Группы			
		Контроль	АОВ	Перитонит	АОВ+перитонит
Фон	Квартиль 75%	245	245	245	245
	Медиана	240	240	240	240
	Квартиль 25%	240	240	240	240
16 сутки	Квартиль 75%	322,5	250	310	235
	Медиана	315	225	305	220
	Квартиль 25%	290	210	300	200

Результаты таблицы свидетельствуют о статистически значимом дефиците веса у животных, подвергшихся воздействию вывешивания, как в

3, так и в 4 группе. Значимого отличия в динамике массы тела между АОВ и АОВ с последующим формированием перитонита нет.

Клинические признаки перитонита на аутопсии представлены в таблице 10.

Таблица 10. Клинические признаки перитонита на аутопсии.

Группа	Номер животного	Клинические признаки				Исход
		Парез кишечника	Инъекция сосудов брюшины	Выпот	Фибрин	
Группа №3 «Перитонит»	3.1	+	+	+	-	Перитонит
	3.2	+	-	+	-	Перитонит
	3.3	+	+	+	+	Перитонит
	3.4	-	+	+	+	Перитонит
	3.5					Смерть
	3.6	+	-	+	+	Перитонит
	3.7	+	+	+	-	Перитонит
	3.8	+	+	+	+	Перитонит
	3.9					Смерть
	3.10	+	+	+	+	Перитонит
	3.11	+	+	+	+	Перитонит
	3.12					Смерть
	3.13	+	+	+	-	Перитонит
	3.14					Смерть
	3.15	+	+	+	+	Перитонит
	3.16	-	+	+	+	Перитонит
	3.17					Смерть
	3.18					Смерть
	3.19	-	+	+	+	Перитонит
	3.20	+	+	+	+	Перитонит
Группа №4 «АОВ и перитонит»	4.1	+	+	+	+	Перитонит
	4.2	-	-	-	-	Отграничение
	4.3		+	+	+	Перитонит
	4.4					Смерть
	4.5	+	+	+	-	Перитонит
	4.6	+	+	+	-	Перитонит
	4.7	-	+	+	+	Перитонит
	4.8					Смерть

	4.9	+	+	+	+	Перитонит
	4.10	+	+	+	-	Перитонит
	4.11	+	+	+	+	Перитонит
	4.12	-	+	+	+	Перитонит
	4.13					Смерть
	4.14					Смерть
	4.15	+	+	+	-	Перитонит
	4.16					Смерть
	4.17	+	+	+	+	Перитонит
	4.18	+	+	+	+	Перитонит
	4.19	+	+	+	-	Перитонит
	4.20	+	+	+	+	Перитонит

При анализе клинических признаков можно отметить, что и в 3-й и в 4-й группах имелись летальные случаи, когда животное погибало менее чем за 24 часа после индукции перитонита. В группе №3 умерло 6 животных, что составило 30%, в группе №4 летальность составила 25% (умерло 5 животных).

На основании клинических признаков можно сказать, что у всех выживших животных 3 группы перитонит был подтвержден. В 4 группе в одном случае было отграничение воспалительного процесса сальником, что предотвратило развитие разлитого воспалительного процесса в брюшной полости.

У животных была проведена микроскопия мазков выпота из брюшной полости. Результаты микроскопии представлены в таблице 11.

Таблица 11. Результаты микроскопии мазков выпота из брюшной полости

Группа	Номер животного	Характеристики выпота				
		Бактерии	Нейтрофилы	Макрофаги	Эритроциты	Мезотелий
Группа №3 «Перитонит»	3.1	+++	++	+	-	-
	3.2	++	++	+	-	-
	3.3	+	++	++	+	+
	3.4	++	+++	+	+	+
	3.5					
	3.6	-	++	++	+	-
	3.7	+	++	+++	+	+
	3.8	+++	++	+	-	-
	3.9					

	3.10	+	++	+	+	-
	3.11	++	++	+	+	-
	3.12					
	3.13	-	++	+	-	-
	3.14					
	3.15	+	++	+	-	-
	3.16	-	++	++	-	-
	3.17					
	3.18					
	3.19	-	++	+	-	-
	3.20	+	+	+	-	-
Группа №4 «АОВ перитонит» и	4.1	+	++	++	-	-
	4.2	-	-	-	-	-
	4.3	-	++	+	-	-
	4.4					
	4.5	-	++	+	-	+
	4.6	+	++	++	-	-
	4.7	-	++	+	-	+
	4.8					
	4.9	+++	++	+	-	-
	4.10	-	++	+	++	-
	4.11	-	++	+	++	++
	4.12	-	++	+	+	++
	4.13					
	4.14					
	4.15	-	++	+	++	+
	4.16					
	4.17	-	++	++	++	+
	4.18	-	++	+	++	+
	4.19	+	++	++	-	-
	4.20	-	++	+	+	-

+++ - очень много, покрывают всё поле зрения; ++ - много; + - мало;

– - отсутствуют.

При анализе результатов микроскопии можно отметить большое индивидуальное разнообразие вариантов экссудата в обеих группах. Статистически значимых отличий между группами выявить нельзя из-за трудности

интерпретации микроскопической картины. На первый взгляд, в группе №3 больший процент животных имеет бактериальный компонент выпота (10 из 14 выживших животных), в группе №4 - 4 из 15 животных. Однако, делать какие-то выводы мы не можем, не учитывая активность фагоцитоза. В некоторых случаях активный фагоцитоз приводил почти к полному отсутствию бактерий в выпоте (рисунок 19). В то же время, в группе №4 мы видим противоположную микроскопическую картину (рисунок 20).

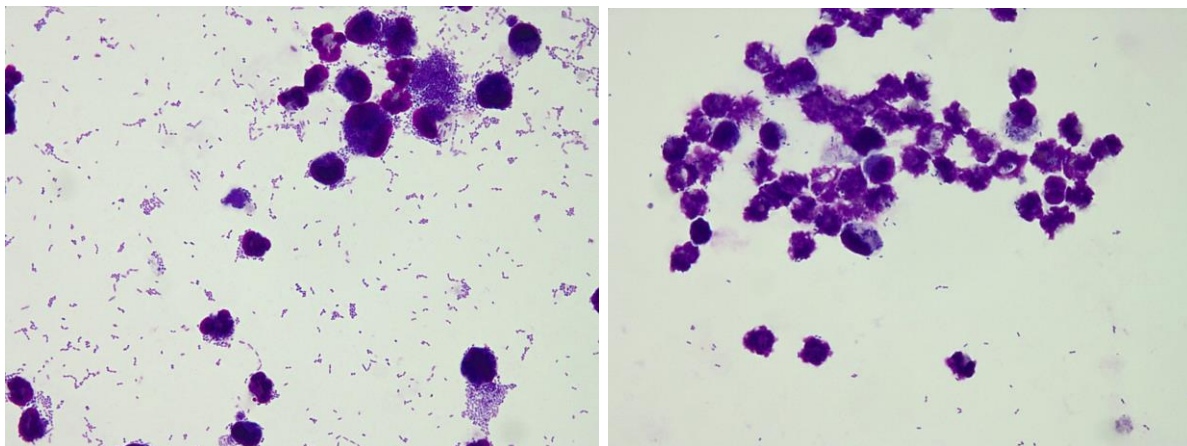


Рисунок 19. Мазки от двух разных животных 3.11 слева и 3.10 справа. На правом изображении, количество бактерий существенно меньше, возможно в результате активного фагоцитоза. (окраска азур-эозином по Романовскому, увеличение x1000).

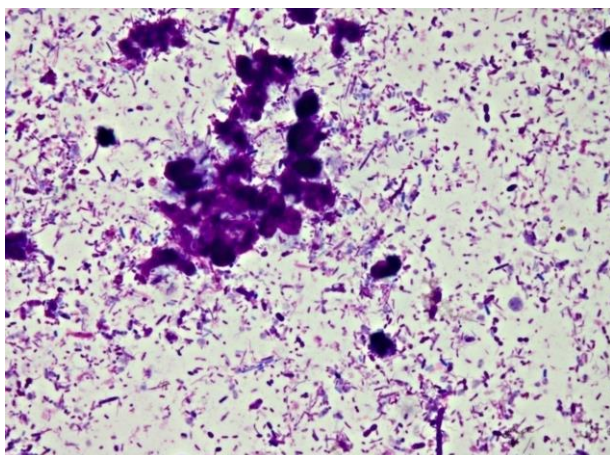


Рисунок 20. Экссудат животного 4.9. Бактерий очень много, агрегат из разрушенных нейтрофилов, фагоцитоз практически отсутствует (окраска азур-эозином по Романовскому, увеличение x1000).

Таким образом, судить о тяжести воспалительного процесса по микроскопии экссудата не представляется возможным. Можно только с уверенностью говорить

о наличии воспаления по, практически, 100% наличию нейтрофилов и макрофагов во всех мазках.

В качестве наблюдения, можно отметить несколько большее количество животных 4 группы с эритроцитами и мезотелиоцитами в экссудате. Интерпретировать этот факт, в настоящее время, мы не можем. Наличие эритроцитов может быть результатом увеличения кровенаполнения абдоминального региона, как эффекта микрогравитации.

4.3 Биохимический анализ крови

Показатели биохимического анализа крови представлены в таблице 12, в виде медианы, первого и третьего квартиля.

Таблица 12. Показатели биохимического анализа крови.

Группа		Контроль	АОВ	Перитонит	АОВ+перитонит
Число животных		20	20	13	15
АСТ, ед/л	Квартиль 75%	275,5	354,5	348	536
	Медиана	224,5	284	292	386*
	Квартиль 25%	183,25	229,25	248	329
АЛТ, ед/л	Квартиль 75%	54,075	52,225	47,1	52,7
	Медиана	44,8	42,25	38,6	45,9
	Квартиль 25%	37,625	30,05	32,3	40,85
ЛДГ, ед/л	Квартиль 75%	1173,25	1299	948	1069,75
	Медиана	953	1041	741	828,5
	Квартиль 25%	645,75	787,5	631	699
Билирубин общ., мкмоль/л	Квартиль 75%	9,25	8,5725	11,5	4,43
	Медиана	6,795	5,28	2,86	2,3*
	Квартиль 25%	3,5575	3,4425	2,1	1,7
Амилаза, ед/л	Квартиль 75%	2631,5	1946,5	2664	2846
	Медиана	2325,5	1765,5*	2350**	1980
	Квартиль 25%	2221,5	1557,25	1828	1613
Липаза, ед/л	Квартиль 75%	59,825	60,425	71,8	65,85
	Медиана	48,1	59,25	60,1	47,9
	Квартиль 25%	45,9	49,4	59,9	41,75
Общий белок, г/л	Квартиль 75%	69,75	66,725	69,4	66,2
	Медиана	68,45	63,65*	65,3	61,9*
	Квартиль 25%	66,475	59,175	61,6	58,65
Альбумин, г/л	Квартиль 75%	41,7	35,95	35,1	29,8
	Медиана	36,4	31,85*	32,7	27,6*
	Квартиль 25%	34,475	29,6	29,8	26,5
Креатинин, мкмоль/л	Квартиль 75%	45,075	41,575	42,9	47,65
	Медиана	40,4	37,7	39,1	42,9
	Квартиль 25%	36,9	35,675	38,8	38,85
Мочевина, ммоль/л	Квартиль 75%	6,0725	9,37	6,05	12,45
	Медиана	5,315	7,78*	5,2	9,14****
	Квартиль 25%	4,5875	5,1175	4,75	8,2
Бикарбинаты, ммоль/л	Квартиль 75%	26,1	24,425	30,3	25,85
	Медиана	23,9	22,5	28,3**	23,8
	Квартиль 25%	21,8	20,825	23,2	21,65

Калий, ммоль/л	Квартиль 75%	6,345	5,88	5,77	5,99
	Медиана	5,765	5,69	5,56	5,8
	Квартиль 25%	5,47	5,19	5,4	5,03
Натрий, ммоль/л	Квартиль 75%	140,25	142	137,7	132,1
	Медиана	138	140	134,1	127,7*
	Квартиль 25%	136,5	138,95	131,4	126,4

* - показатель статистически значимо отличается от контрольной группы ($p \leq 0,05$).

** - показатель статистически значимо отличается от группы АОВ ($p \leq 0,05$).

*** - показатель статистически значимо отличается от группы перитонит ($p \leq 0,05$).

При анализе биохимических показателей обращает на себя внимание тот факт, что наибольшие изменения отмечаются в группах 2 и 4, где моделировали эффекты микрогравитации. Статистически значимое снижение общего белка крови и альбумина в этих группах, а также повышение мочевины указывают на усиление катаболических процессов, которые в норме сопровождают как реальную, так и моделированную микрогравитацию. В космических полетах и при моделировании невесомости установлена фазность изменений концентрации белков крови с тенденцией к снижению [170,173]. Даже не продолжительные полёты, по данным зарубежных исследователей, влияют на скорость синтеза белка [174,175]. Однако, механизмы, вызывающие снижение белковосинтетической функции, в микрогравитации, до настоящего момента точно не установлены. Данные, полученные в наших экспериментах, о статистически значимом снижении концентрации, как общего белка плазмы крови, так и альбумина, происходят на фоне морфологических изменений в печени под воздействием АОВ и роста уровня мочевины. Исходя из этого можно предположить, что снижение белковосинтетической функции печени происходит на фоне усиления катаболических процессов и циркуляторных изменений, вызванных изменением гравитационного фактора.

Статистически значимых отличий между группами 2 и 4 не выявлено, но рассматривая абсолютные показатели, можно заметить, что гипопротеинемия и гипоальбуминемия более выражены в группе 4, при сочетании АОВ с перитонитом. Вероятно, снижение белковосинтетической функции печени усугубляется развитием воспалительного процесса в брюшной полости.

Еще одним свидетельством усиления катаболических процессов является подъем в крови уровня мочевины. В большинстве исследований, проведенных как во время полетов на космических кораблях и на орбитальных станциях, так и после их завершения показан рост уровня мочевины в плазме крови, который сопровождается усилением её экскреции и увеличении её концентрации в моче. Также в моче отмечено увеличение уровня мочевой кислоты. Схожие данные получены в наземных модельных экспериментах [170,171,173,174]. В наших экспериментах получен статистически значимый рост концентрации мочевины как в группе с изолированным вывешиванием, так и в группе с индукцией перитонита на фоне АОВ. Обращает внимание статистически значимое повышение уровня мочевины в группе АОВ+Перитонит по сравнению с группой перитонит (3-я группа), что также укладывается в картину представлений об усилении катаболических эффектов при сочетанном действии вывешивания и инфекционно-воспалительного процесса.

Также в пользу более тяжелого течения перитонита на фоне АОВ свидетельствует статистически значимое отличие рост концентрации аспаратаминотрансферазы в группе с сочетанием перитонита и вывешивания. Повышение активности трансаминаз в модели микрогравитации, также свидетельствует о катаболических сдвигах в белковом обмене, как у человека, так и у животных. [170,171,173,174].

Из электролитных нарушений необходимо отметить снижение уровня ионов натрия в группе 3 (перитонит) и достигающего статистической значимости в группе 4 (АОВ+перитонит). На наш взгляд, это связано с дополнительными потерями натрия при переходе его в воспалительный экссудат брюшной полости, что так же косвенно может свидетельствовать в пользу утяжеления воспалительного процесса на фоне вывешивания.

4.4 Морфологические изменения.

Оценка морфологических изменений в наших исследованиях была существенно затруднена мозаичной картиной и относительно небольшим объемом выборки. К сожалению, даже стандартные места забора гистологического

материала не обеспечивали однородность выборки и в микропрепарат мог попасть «относительно благополучный» с точки зрения патологических признаков участок ткани или органа, при этом клиническая картина была максимально тяжелой. И, наоборот, у животного с достаточно легким течением инфекционного процесса в микропрепарат попадала зона тяжелого некроза. Таким образом, в этом разделе представлены наиболее характерные для отдельных экспериментальных групп морфологические картины.

Кишка.

Ведущим признаком воспалительной реакции является лейкоцитарная инфильтрация. Встречались участки значительной инфильтрации подслизистой и особенно мышечной оболочек лейкоцитами (рисунок 21, слева). Степень инфильтрации нагляднее представляется в сравнении с мышечной оболочкой интактного животного (рисунок 21, справа).

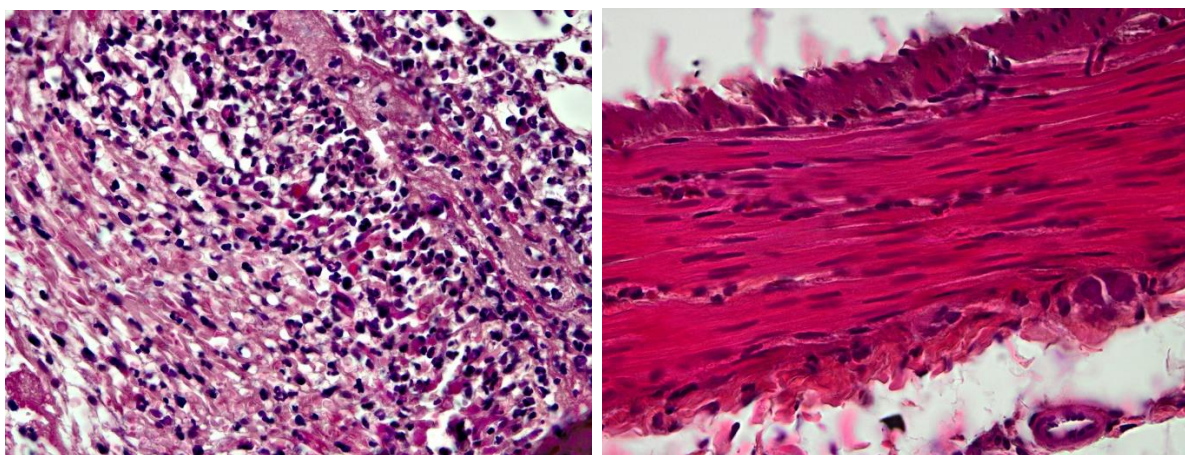


Рисунок 21. Перитонит, лейкоцитарный инфильтрат мышечной оболочки (слева) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x600). Крыса контрольной группы, мышечная оболочка, поперечный срез. Видны ядра гладкомышечных и васкулярных клеток, лейкоциты отсутствуют (справа) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x1000).

В подслизистой оболочке кишки неравномерно выраженный у разных животных и в разных участках одного среза, но, в общем очень значительный отек. Между клетками и волокнами отечной ткани эритроциты встречались редко, просветы сосудов, в большинстве случаев, были пустыми (рисунок 22, слева). Отек мышечной оболочки был особенно выражен в циркулярном слое (рисунок 22, справа).

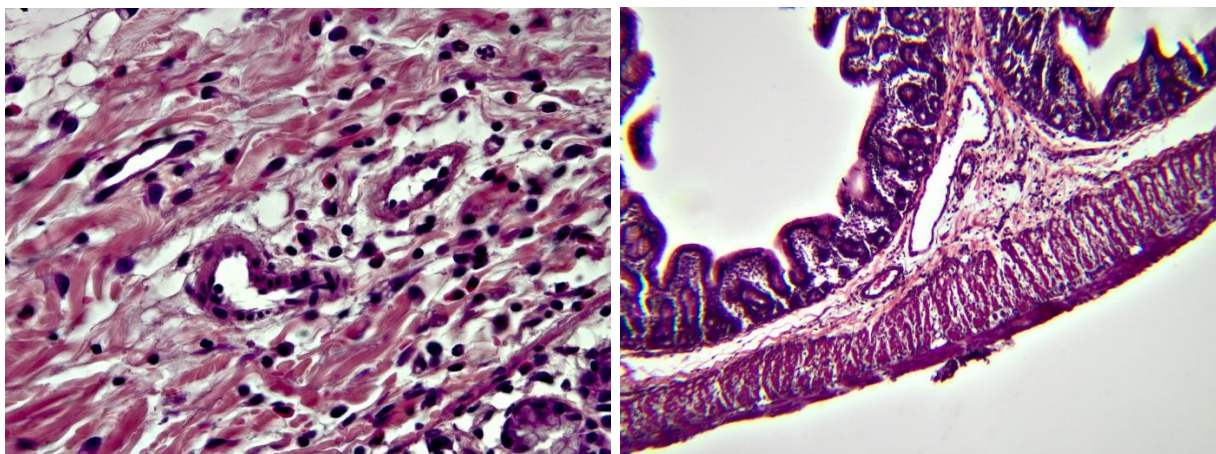


Рисунок 22. Перитонит, подслизистая оболочка с большим числом гладкомышечных клеток. Пустые просветы сосудов и отсутствие эритроцитов в пространствах, занятых отечной жидкостью (слева) (окраска гематоксилин-эозином увеличение $\times 600$). Перитонит, обширные «пустые» (отёчные) пространства в подслизистой оболочке, отек циркулярного слоя мышечной оболочки (справа) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение $\times 100$).

Состояние кишечной стенки при перитоните в условиях АОВ (группа 4), в отличие от перитонита в обычных условиях (группа 3), характеризовалось резким изменением сосудистой системы. Сосуды расширялись, присутствовали признаки замедления тока крови вплоть до стаза: просветы содержали много эритроцитов, разрушалась сосудистая стенка. Множество эритроцитов в просвете сосуда могло быть обусловлено обстоятельствами смерти (не вытекла кровь), но в нашем материале одновременно повышено содержание лейкоцитов, а это уже свидетельство прижизненного замедления тока крови и активации лейкоцитов. В слизистой оболочке расширенные и заполненные эритроцитами и лейкоцитами сосуды становились гораздо заметнее. Создавалось впечатление, что их стало много, больше, чем в норме (рисунок 23).

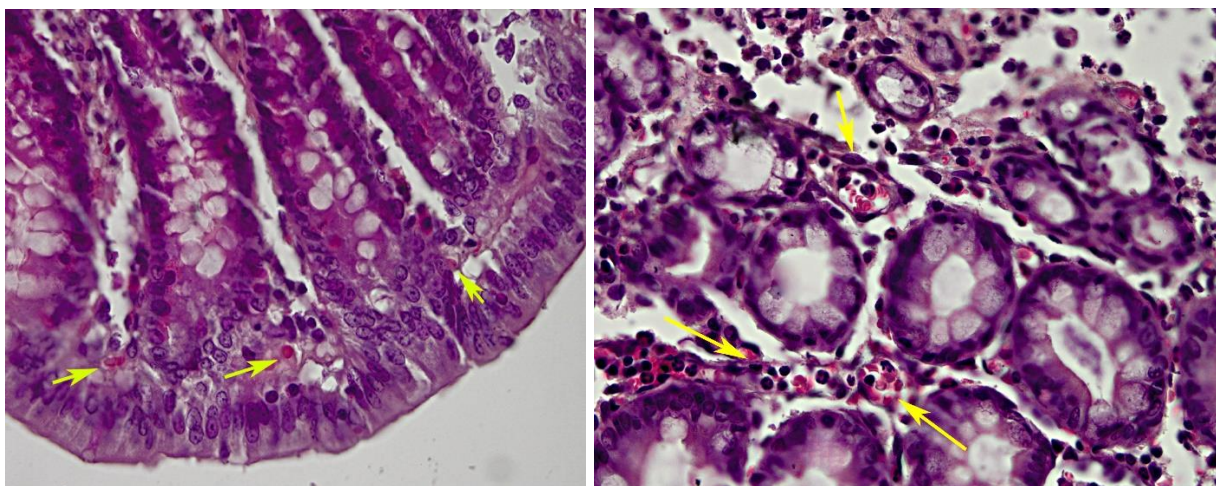


Рисунок 23. Слизистая оболочка (вершина складки) слепой кишки крысы контрольной группы (группа 1). Сосуды (указаны стрелками) малочисленны, тонки, почти незаметны. (слева) (Окраска гематоксилин-эозином увеличение $\times 600$). Перитонит + АОВ (группа 4) Слизистая оболочка слепой кишки. Множество крупных и мелких сосудов (указаны стрелками). Просветы заполнены (иногда без промежутков) эритроцитами и большим числом лейкоцитов (справа). (Окраска гематоксилин-эозином увеличение $\times 600$).

Разрушение стенки сосудов при АОВ проявлялось в большом числе эритроцитов, находящихся в обычной для перитонита отечной жидкости (рисунок 24, слева). Инфильтрация подслизистого и мышечного слоев кишечной стенки лейкоцитами при перитоните на фоне АОВ была выражена сильно, однако, сравнить группы 3 и 4 по этому признаку трудно, поскольку инфильтраты имели очаговое распространение. Например, можно было наблюдать резкое различие циркулярного и продольного мышечных слоев по «насыщению» их лейкоцитами (рисунок 24, справа).

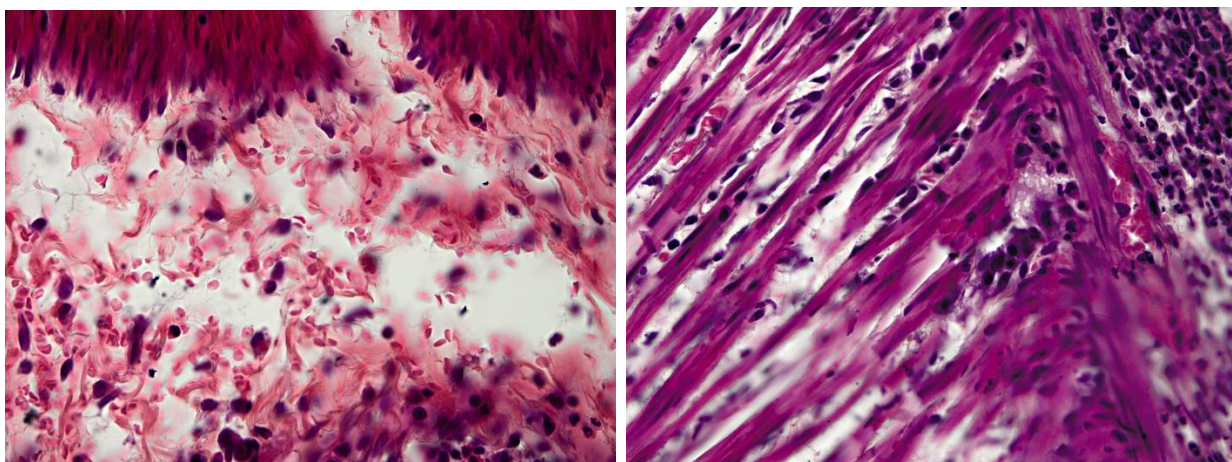


Рисунок 24. Перитонит + АОВ. Отечная жидкость подслизистой оболочки содержит много излившихся из сосудов эритроцитов (слева) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение $\times 600$). Перитонит + АОВ. При едва заметной инфильтрации лейкоцитами циркулярного (внутреннего)

слоя мышечной оболочки – левая часть снимка, продольный слой инфильтрирован в высокой степени – правая часть снимка (справа) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x600).

Таким образом, в состоянии кишечной стенки в группе 4 (перитонит+АОВ) к отёку и лейкоцитарной инфильтрации, характерным для перитонита, добавляются сосудистые нарушения, которые выражаются в полнокровии, стазе, агрегации эритроцитов и лейкоцитов и даже разрушении сосудистой стенки.

Печень.

Морфологические изменения, вызванные АОВ, затрагивали в основном, микроциркуляторное русло. В результате воздействия вывешивания наблюдали умеренное расширение синусоидов, которое было либо равномерное, выраженное по всему объёму дольки (рисунок 25, слева), либо диаметр синусоидов увеличивался в центральной части дольки, при приближении к центральной вене (рисунок 25, справа), а в средней и перипортальной частях дольки не отличался от виварийного контроля. Оба варианта застоя можно было наблюдать в одном органе. Иногда в участках наиболее выраженного застоя – центрилобулярных зонах встречались эритроциты.

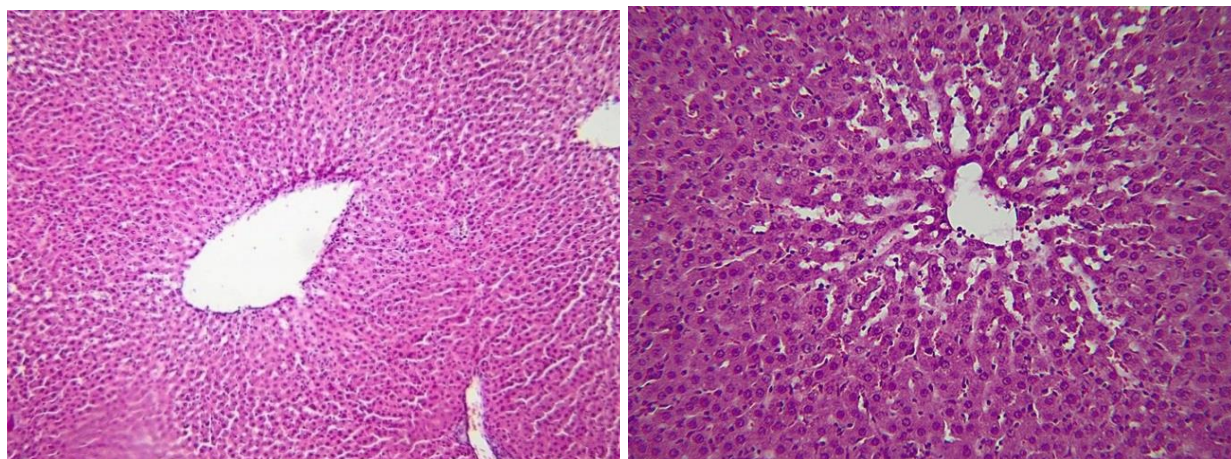


Рисунок 25. Печень животного, после АОВ в течение 14 дней. Умеренное расширение синусоидов одинаково выражено как в центрилобулярных, так и в перипортальных отделах дольки (слева) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x100) размер синусоидов нарастает ближе к центральным отделам дольки (справа) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x400).

Развитие перитонита сопровождалось, значительно более выраженным, чем при АОВ, расширением синусоидов, появлением в них и в центральной вене

эритроцитов, крупнокапельной вакуольной дистрофии гепатоцитов (рисунок 26, слева). Расширение синусоидов было столь резким, что диаметры синусоидов и печеночных балок сравнивались (рисунок 26, справа).

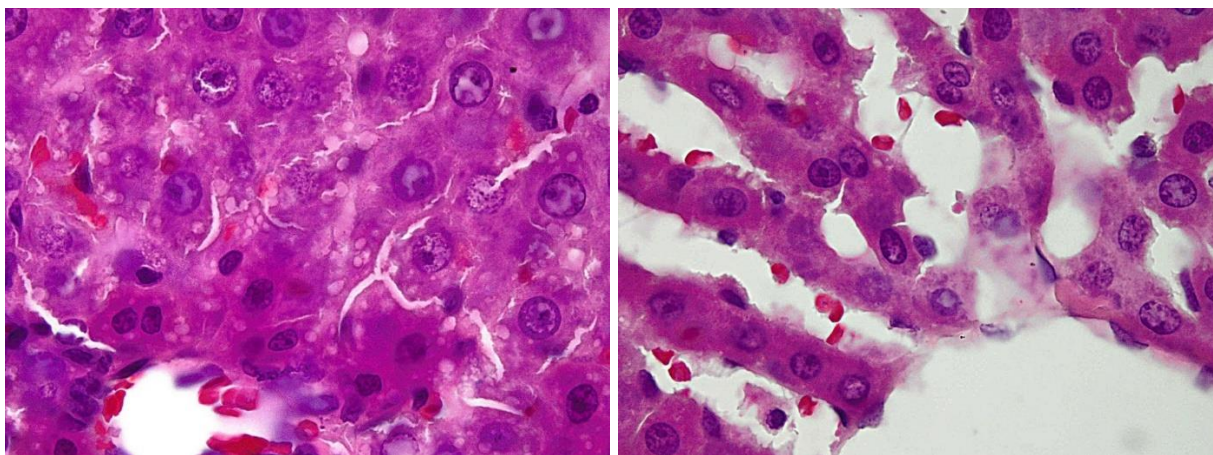


Рисунок 26. Печень крысы при перитоните. Эритроциты между балок и в центральной вене. Крупнокапельная вакуольная дистрофия центрилобулярных гепатоцитов (слева) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x1000). Печень крысы при перитоните. Резкий отек, выраженное расширение синусоидов, кровь в них (справа). (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x600).

При оценке перитонита на фоне АОВ циркуляторные изменения в печени были выражены существенно меньше, чем при перитоните у виварийных животных (рисунок 27, справа). Это выражалось в меньшем расширении как синусоидов, так и центральных вен в дольках, хотя и там в синусоидах присутствовали нейтрофилы, как свидетельство воспалительной реакции (рисунок 27, слева). В настоящее время, точный механизм положительного влияния вывешивания на морфологическую картину мы пока назвать не можем. Возможно, это связано с особенностями кровоснабжения печени. В отличие от кишечника, кровоснабжающегося через чревный ствол (брыжеечную артерию) и нижнюю полую вену, 80% входящего кровотока печень получает по системе воротной вены, собирающей кровь из верхней брыжеечной и селезёночной вен. Только 20% входящего кровотока печень получает по печеночной артерии. Это формирует локальную специфическую систему кровообращения печени. Такой вено-венозный кровоток, возможно, приводит к отмеченным менее выраженным циркуляторным нарушениям при перитоните в условиях АОВ.

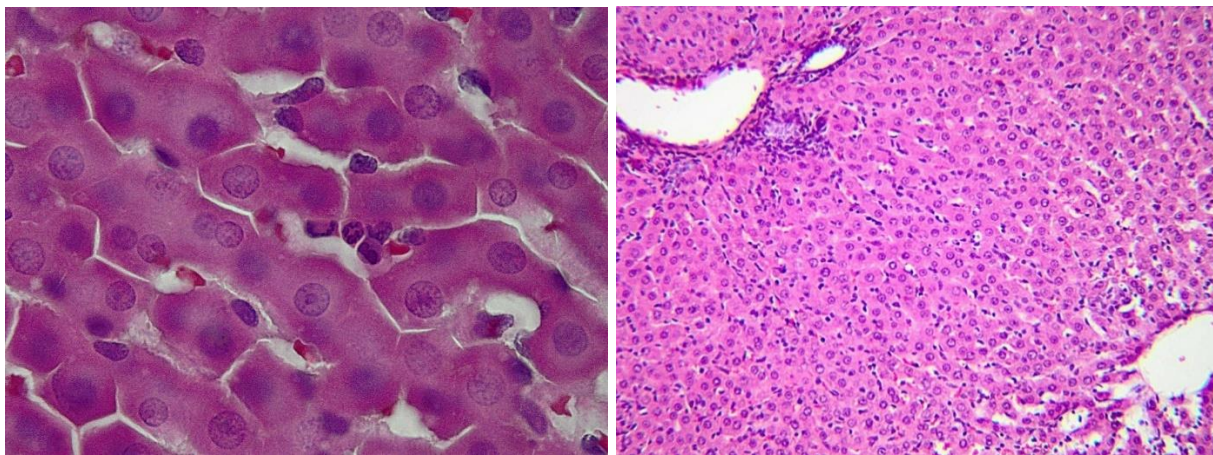


Рисунок 27. Печень животных (группы 4) при сочетании перитонита и вывешивания. Отмечается незначительное расширение синусоидов, в центре кадра лейкоциты (нейтрофилы), Купферовские клетки и гепатоциты, практически не отличаются по размерам ядер (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение $\times 1000$). Общий вид долики от портальных трактов до печеночной вены. Печень при сочетании перитонита и АОВ. Можно отметить расширение синусоидов, в основном около центральной вены. На периферии паренхима носит практически нормальный вид (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение $\times 200$).

Поджелудочная железа

Поджелудочная железа животных контрольной группы представлена на рисунке 28.

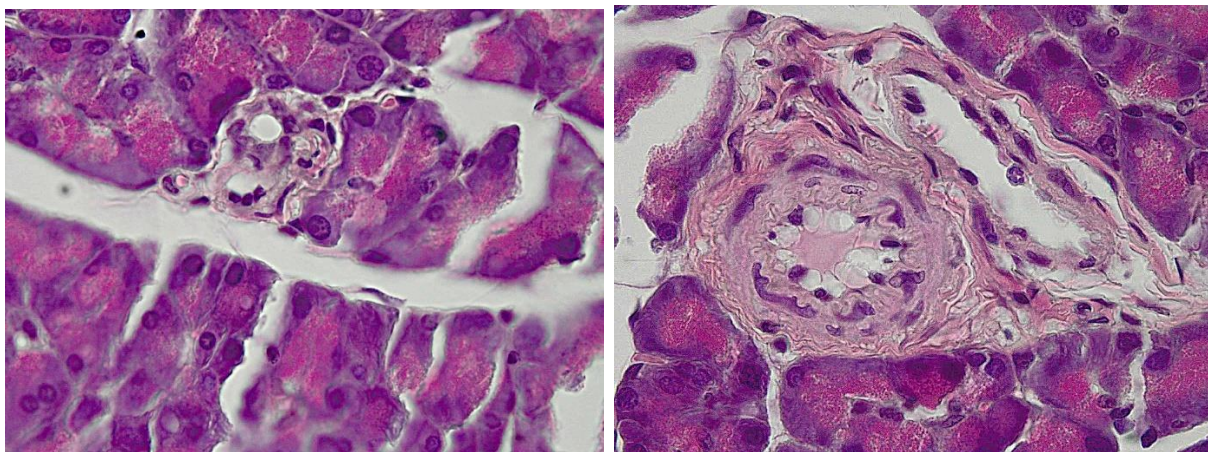


Рисунок 28. Поджелудочная железа контрольной крысы. Пустой междольковый проток (слева) и пустые междольковые сосуды (справа) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение $\times 1000$).

Структура железы без изменений: видны базальные зона ацинусов и ацинарных клеток, хорошо различаются ядра ацинарных клеток. Междольковые протоки и сосуды, как правило, пустые.

Любопытную картину можно наблюдать в полутонких срезах (рисунок 29).

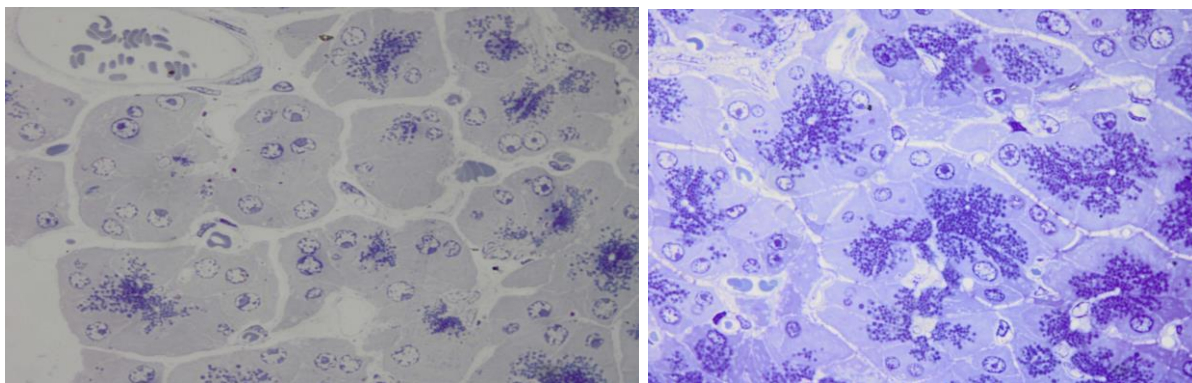


Рисунок 29. Сравнение ткани поджелудочной железы крыс контрольной группы (слева) и вывешенных животных (справа). Можно отметить значительно большее скопление гранул профермента зимогена в ацинарных клетках в группе АОВ (группа 2). (Полутонкие срезы. Окраска толуидиновым синим, увеличение $\times 1000$).

При анализе этих препаратов можно увидеть, что ключевым отличием морфологической картины в ткани поджелудочной железы при АОВ является существенно большая концентрация зёрен зимогена в экзокринных клетках. В полутонких срезах у контрольных животных зимоген также определяется, однако его количество существенно меньше, а в некоторых ацинарных клетках он практически отсутствует. Вероятно, это связано с тем, что срез проходит не через апикальную часть клетки, поскольку экзокринные клетки поджелудочной железы в норме всегда содержат зимоген [169]. У вывешенных животных ацинарных клеток без зимогена мы не видим совсем.

Схожие данные были получены при изучении пищеварительной системы у животных в наземных экспериментах и после космического полета биопутника «Космос-782» [170,171,172]. В ходе проведения параллельного исследования выявлена задержка в накоплении секрета поджелудочной железы, в верхушечных отделах ацинарных клеток, выразившееся в большом количестве гранул зимогена. У животных совершивших полет на биопутнике задержка всех фаз секреции была выражена в наибольшей степени. В то же время, у животных как в наземном эксперименте, так и в полетной группе отмечено нарушение продукции и транспортировки ферментов поджелудочной железы.

У крыс с перитонитом в условиях вивария выявлены значительные участки, содержащие ацинарные клетки без гранул зимогена. Клеточный материал, соответствующий по цвету зимогену в некоторых клетках, всё-таки встречался, но не имел гранулярного строения. В отдельных внутридольковых протоках он располагался на клеточной стенке, по окружности протока. Некоторое количество гранул обычного строения визуализированы во вставочных междольковых протоках. Вероятно, это связано с нарушением оформления проферментов в гранулы на фоне воспалительного процесса, а уже образованные гранулы разрушаются внутри клетки и ферменты выделяются в просвет протоков в свободном виде, наряду с некоторым количеством зимогена, сохранившего гранулярное строение. Описанные внутриклеточные изменения в формировании гранул профермента при перитоните сочетались с деструкцией органа (рисунок 30 справа). 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.

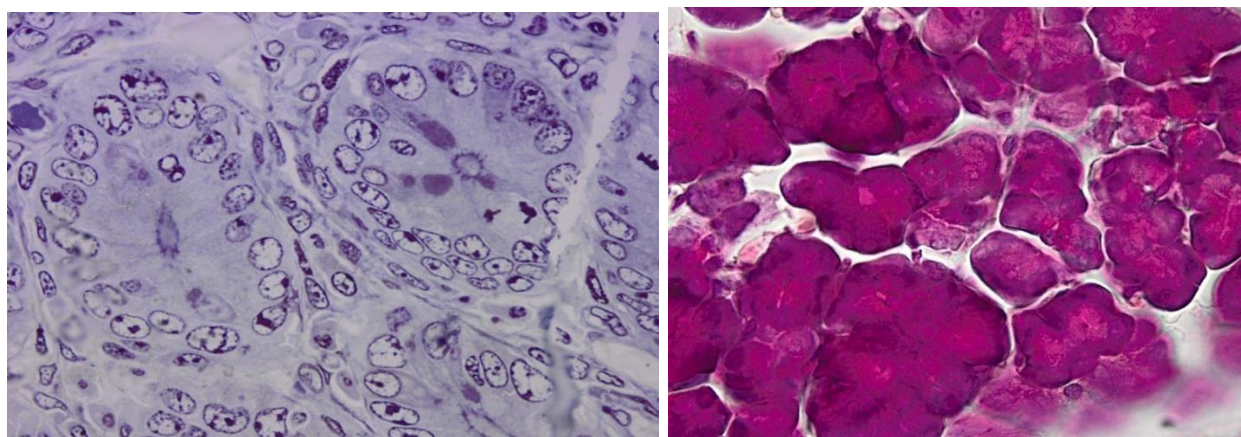


Рисунок 30. Изменения ткани поджелудочной железы при перитоните. Экзокринные клетки без гранул (слева). Отдельные гранулы видны в междольковых протоках (Полутонкий срез, окраска толуидиновым синим, увеличение $\times 1000$). Участок панкреонекроза (справа). Содержимое ацинусов гомогенно, зимоген неразличим. Едва заметны остатки ядер, это уже не ядра, а скопления гомогенизированного хроматина, межацинарный отек (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение $\times 1000$).

Вместе с тем, в группе 3 достаточно распространена и картина представленная на рис. 31. Вероятнее всего 24-х часовой экспозиции с момента индукции перитонита не хватало для развития полноценного панкреонекроза и в момент фиксации железы ещё сохранялись некоторые ядра экзокринных клеток (рисунок 31, слева), а в некоторых микропрепаратах патологические проявления ограничивались только межацинарным отеком ткани (рисунок 31, справа).

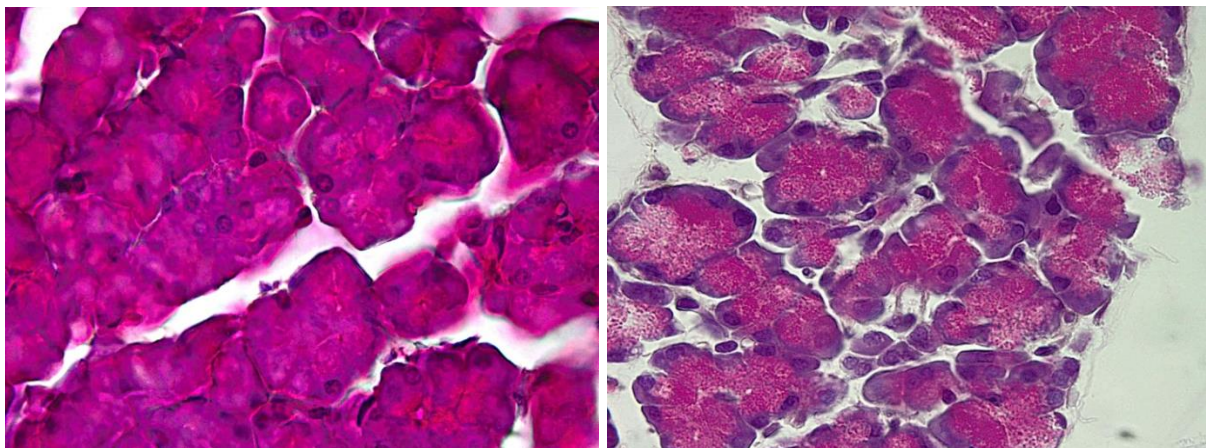


Рисунок 31. Поджелудочная железа крысы при перитоните. В расплавляющихся ацинасах видны «тени» ядер базальных клеток (слева) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x1000). Участок поджелудочной железы с сохранённой структурой, можно видеть клеточные ядра и гранулы зимогена. Патологические проявления ограничены явлениями отёка межацинарного пространства (справа) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x1000).

Перитонит в сочетании с вывешиванием имел заметно худшее течение даже при учёте большого разнообразия морфологической картины у отдельных крыс. В первую очередь, отмечались выраженные нарушения циркуляции, застой крови в сосудах органа (рисунок 32), которого не наблюдали при перитоните в группе 3.

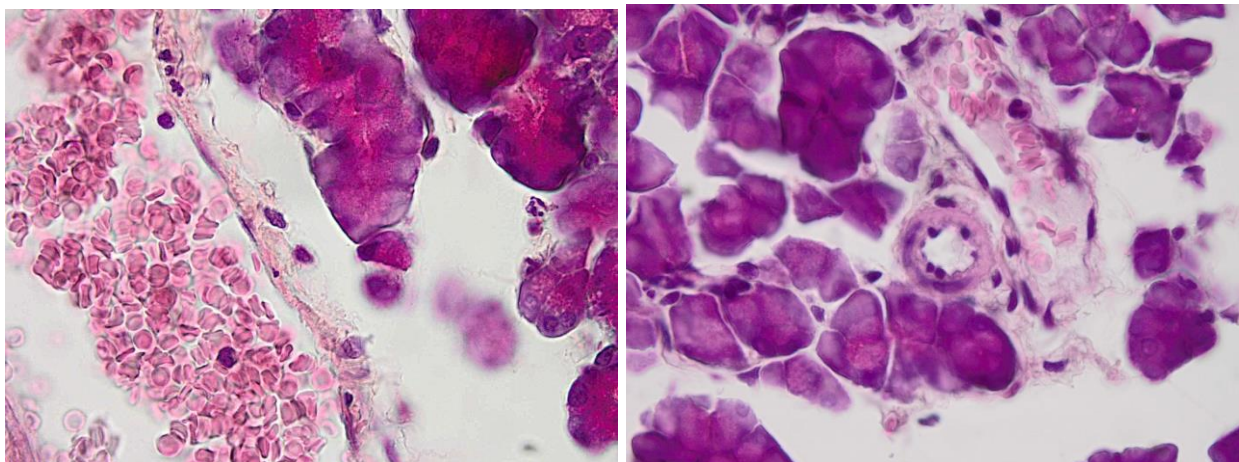


Рисунок 32. Поджелудочная железа при перитоните и АОВ. Массивное скопление эритроцитов в крупном сосуде. Рядом с сосудом ацинус в состоянии некроза, лизиса ядер. Правее остались не ядра (характерной формы в них нет) а хроматин на месте бывших ядер (слева). Вокруг застойного сосуда и пустого протока расположены ацинусы в состоянии панкреонекроза. Видны только ядра интерстициальной ткани. Отек интерстициальных пространств. (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x1000).

Обширные зоны панкреонекроза многократно находили в непосредственном соседстве с сохранившимися островками Лангерганса (рисунок 33). Вовлечения в некротическую зону островков не наблюдали.

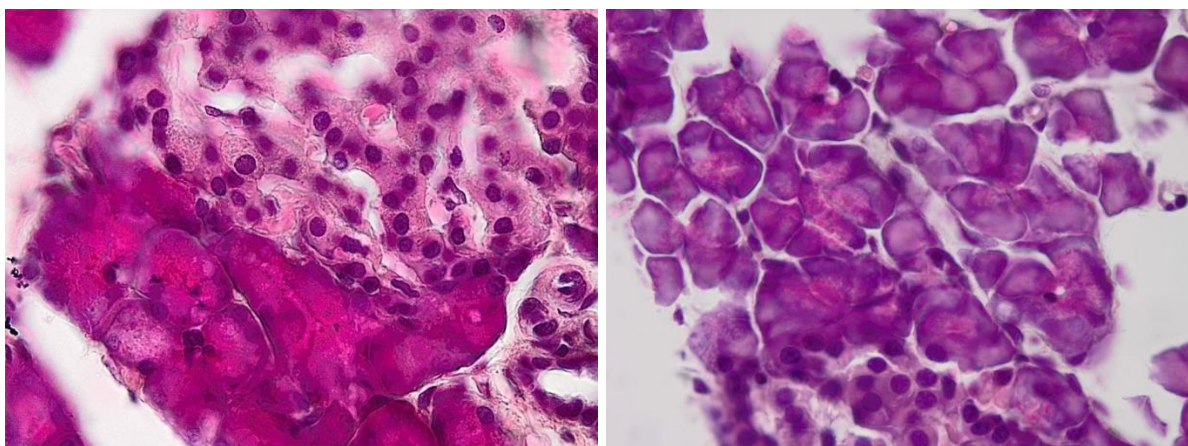


Рисунок 33. Поджелудочная железа крысы при перитоните и АОВ. Сочетание картины панкреонекроза в нижней части снимка и сохранной ткани островка Лангерганса в верхней части (слева) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x1000). Над сохранившимся островком Лангерганса ацинусы в состоянии панкреонекроза. Лишь рядом с островком видны отдельные сохранившиеся базальные клетки (справа) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение x1000).

Таким образом, можно отметить, что АОВ оказывает негативное влияние на течение инфекционного процесса и его воспалительных проявлений как в брюшной полости, так и в органах забрюшинного пространства. Однако, изменения регионарного кровотока, вызванные перераспределением крови в краниальном направлении, по-разному проявляются в отдельных органах. Проявления циркуляторных нарушений в печени при перитоните в условиях АОВ существенно менее выражены, чем при виварийном перитоните. Возможно это связано со специфическим вено-венозным кровоснабжением печени, которая 80% своего кровотока получает по системе портальной вены и, возможно, лучше адаптируется к изменениям, возникающим в условиях моделирования микрогравитации. В то же время, морфологические деструктивные изменения в стенке кишки и поджелудочной железы при перитоните в условиях вывешивания существенно более выражены. Помимо циркуляторных нарушений, возникающих в этих органах, в поджелудочной железе значительную роль в течении патологического процесса вносят изменения ферментативной активности. АОВ приводит к избыточному накоплению в экзокринных клетках поджелудочной железы гранул профермента зимогена. Нарушение структуры этих гранул, спровоцированное воспалительным процессом, приводит к контакту зимогена с лизосомальными ферментами, их активацией и массивному аутолизу панкреатоцитов. Ещё одним подтверждением роли ферментов в ухудшение морфологической картины при перитоните в условиях АОВ, является отсутствие изменений в эндокринных клетках островков Лангерганса.

Биохимические изменения при перитоните и АОВ иллюстрируют феномен взаимного отягощения и усиления тяжести течения перитонита в условиях моделирующих эффекты микрогравитации.

Обобщая полученные данные можно отметить определенные закономерности.

Исходя из уровня трансаминаз крови можно сказать, что АОВ усугубляет патологические процессы в гепатопанкреатобилиарной зоне. Это связано с односторонним действием «невесомости» и воспалительного процесса в

брюшной полости и забрюшинном пространстве. Вероятным механизмом является перераспределение жидкости, в первую очередь крови, при АОВ с возникновением застойных явлений в сосудах брюшной полости.

Гипопроотеинемия и гипоальбуминемия, возникающие в ответ на воспаление, также усугубляются моделированием в организме эффектов микрогравитации.

АОВ меняет ферментативную активность поджелудочной железы, повышая накопление ацинарными клетками гранул профермента зимогена. Внутриклеточное разрушение этих гранул при возникновении воспалительного процесса в брюшной полости и забрюшинном пространстве может серьезно усугубить некротические процессы в поджелудочной железе по механизму аутолиза.

ГЛАВА 5. ОСОБЕННОСТИ ИШЕМИЧЕСКОГО И ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ (НЕКРОЗА) ГОЛОВНОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭФФЕКТОВ МИКРОГРАВИТАЦИИ.

Одним из важнейших патоморфологических состояний является некроз – омертвление клеток и тканей в организме. Некроз может быть результатом или исходом воспаления, а может возникать как самостоятельный патологический процесс. Исход и прогноз некроза зависит от локализации и объема повреждения. Одним из наиболее значимых в клиническом отношении является повреждение головного мозга. Чаще всего некроз является следствием сосудистых нарушений, таких как ишемия и геморрагия. Патологические механизмы этих процессов различны, но исход и в одном и в другом случае один - омертвление участка ткани.

Учитывая клиническое значение нарушений в ЦНС, для рассмотрения процесса некроза в невесомости, мы выбрали модели повреждения головного мозга. Это связано с тем, что данный патологический процесс, с одной стороны, может иметь тяжелые или даже фатальные последствия для жизни и здоровья, а, с другой стороны, имеет четкие клинические и морфологические критерии оценки тяжести течения и исхода.

Несмотря на то, что микрогравитация меняет системную циркуляцию и влияет на кровоснабжение всех органов, мозг, как орган с максимальным кровообращением и наиболее чувствительный к изменениям кровотока, является одним из наиболее важных объектов экспериментальных работ в моделях невесомости.

Мы исследовали два вида некроза в коре головного мозга: ишемический и геморрагический.

5.1 Ишемический некроз.

В ходе изучения ишемического некроза были выполнены два эксперимента с 14-суточным АОВ крыс.

Задачей первого эксперимента было оценить, влияют ли условия АОВ на отдельные когнитивные функции крыс, и какие при этом происходят структурные

изменения в центральной нервной системе. Кроме того, по результатам этого эксперимента планировали осуществить окончательный выбор поведенческих и морфологических показателей, позволяющих оценить состояние ЦНС при моделировании локальной ишемии головного мозга в условиях модели микрогравитации.

Задачей второго эксперимента было моделирование ишемии участка коры головного мозга, отвечающего за когнитивные функции (префронтальная кора), в процессе АОВ и анализ особенностей течения фокального ишемического инфаркта префронтальной коры при увеличенном кровенаполнении церебральных сосудов по сравнению с той же ишемической моделью в обычных виварийных условиях.

5.1.1 Структурные и функциональные особенности префронтальной коры мозга крыс после АОВ (Эксперимент 1).

У нелинейных крыс-самцов массой 210-220 г. вырабатывали условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ) по ранее описанной методике [148]. В исследование отбирали животных с устойчивым УРПИ, т.е. тех, чей латентный период перехода (ЛП) из светлого отсека камеры в тёмный составлял не менее 300 сек. Всего для эксперимента было отобрано 17 крыс, которых разделили на экспериментальную (n=8) и контрольную (n=9) группы.

Животных экспериментальной группы (ЭГ) после проверки выработанного УРПИ и оценки двигательной активности в тесте «открытое поле» (исследования проводили на приборе РОДЭО-1) одевали в специальные костюмы и подвешивали в сконструированных для таких экспериментов клетках головой вниз под углом - 30^0 (АОВ – 30^0). После 14-суточного пребывания в АОВ с крысы снимали костюм и ещё двое суток содержали в обычных виварийных условиях. По прошествии этого времени проверяли ранее выработанный УРПИ, оценивали двигательную активность и после наркоза (300 мг/кг хлоралгидрата) животное декапитировали и выделяли префронтальную зону коры. Её кусочки размером 1 мм³ фиксировали и заливали в эпоксидную смолу по методике приготовления электронно-микроскопических препаратов.

Поскольку ранее было показано, что обнаруженное значительное число двухъядерных нейронов префронтальной зоны коры мозга крыс после инсульта, вызванного фототромбозом, по сравнению с виварийным контролем, является проявлением физиологической и репаративной регенерации этих клеток [176, 177], была поставлена задача – оценить влияют ли условия 14-суточной АОВ на процесс слияния нейронов в области коры, отвечающей за когнитивные функции.

Большее количество дикарионов свидетельствует о более активном процессе регенерации этих клеток. Количество в коре двухъядерных клеток (дикарионов) определяли в полутонких (1 мкм) эпоксидных срезах, окрашенных спиртовым раствором крезилового фиолетового. Определённую компьютером площадь среза делили на число найденных в нём дикарионов, то есть устанавливали среднюю площадь (мкм²) на 1 дикарион и этот показатель использовали для установления плотности расположения слившихся клеток. Чем меньше площадь, тем больше дикарионов находится в исследуемом участке коры и наоборот.

Контрольная группа (КГ) животных находилась в обычных условиях вивария без каких-либо дополнительных воздействий одновременно с экспериментальной группой и тот же промежуток времени.

Результаты исследования когнитивных функций крыс представлены в таблицах 13 и 14. Значения ЛП указанные в таблице 13 были измерены до выработки УРПИ. Перед вывешиванием у всех животных обеих групп ЛП составлял не менее 300 сек.

Таблица 13. Показатели двигательной активности и когнитивных функций крыс до 14-суточной АОВ.

Экспериментальная группа				Контрольная группа			
№ крысы	С	ГА	ЛП	№ крысы	С	ГА	ЛП
2	10	135	3	1	21	298	4
3	12	177	2	8	56	182	2
6	6	116	1	9	16	183	3
16	1	305	1	10	18	201	2
23	19	209	1	17	27	119	2
26	19	195	1	19	28	204	2

27	10	115	1	20	5	64	1
30	14	179	1	24	21	300	8
				29	20	267	8
Среднее	11,4±6,14	178,9±62,15	1,4±0,77	Среднее	23,5±14,7	202,0±80,17	3,5±2,2

С – количество стоек за время обследования;

ГА – горизонтальная активность;

ЛП – латентный период перехода (сек) – время перехода животного в тёмное помещение после включения яркого света.

Таблица 14. Показатели двигательной активности и когнитивных функций крыс после 14-суточной АОВ.

Экспериментальная группа				Контрольная группа			
№ крысы	С	ГА	ЛП	№ крысы	С	ГА	ЛП
2	10	156	300	1	8	148	300
3	28	165	300	8	13	92	300
6	11	107	300	9	4	51	300
16	6	148	241	10	7	15	300
23	18	173	275	17	1	45	300
26	3	50	300	19	3	57	300
27	13	158	300	20	2	28	300
30	12	104	115	24	2	90	300
				29	13	37	300
Среднее	12,6±7,6	132,6±42,1	266,4±64,7	Среднее	6,6±4,7	62,5±42,7^{*,**}	300

Обозначения см. таблица 13.

Примечание: * - достоверное отличие от фоновых значений ($p < 0,05$);

** - достоверное отличие от экспериментальной группы ($p < 0,05$).

Анализ данных, представленных в таблице 13 свидетельствует о том, что до АОВ статистических различий между ЭГ и КГ не было, хотя все показатели КГ несколько превышают соответствующие показатели ЭГ.

После 14-суточной АОВ в ЭГ средние значения показателей двигательной активности и УРПИ достоверно не отличаются от фоновых значений. Вместе с тем необходимо отметить, что у трёх крыс из восьми произошло снижение ЛП УРПИ. В КГ после 14-дневного пребывания в обычных виварийных условиях показатели двигательной активности достоверно снижены по сравнению с фоном, а латентный период УРПИ остался неизменным. Снижение показателей двигательной активности контрольной группы крыс и сохранение условного рефлекса

пассивного избегания свидетельствуют о сохранности когнитивных функций, поскольку животные проявляют меньший «интерес» при повторном предъявлении знакомой обстановки устройства «открытого поля», а, сохраняя в памяти неприятные ощущения от воздействия электрического тока (УРПИ), избегают его повторения.

Результаты обследования животных ЭГ, напротив, можно рассматривать как неблагоприятное влияние условий АОВ на когнитивные функции. Уменьшение латентного периода перехода свидетельствует об ослаблении условного рефлекса пассивного избегания, сохранение двигательной активности в «открытом поле» на до экспериментальном уровне – о слабом закреплении в памяти информации, полученной во время первого (фоновом) тестирования.

Средняя частота слияний нейронов после АОВ – на 56% ниже, чем среднее значение этого показателя в контрольной группе, хотя это различие статистически незначимо ($p > 0,054$ по критерию Вилкоксона). Однако, у 3-х крыс экспериментальной группы с ослаблением когнитивных функций средняя частота слияний нейронов была достоверно ниже средней величины в контрольной группе, что, во-первых, можно рассматривать как вероятное подтверждение связи функции и структуры, а, во-вторых, как неблагоприятный эффект условий антиортостатического вывешивания.

О неблагоприятном влиянии АОВ на структуры мозга крыс указывают и другие авторы. Так, при гистологических исследованиях мозга крыс, находившихся 93 суток в антиортостатическом положении, были выявлены морфологические изменения в артериях, венах и капиллярах, эпендимальных клетках желудочков и эпителиальных клетках сосудистого сплетения. В некоторых нейронах коры и базальных ядер выявлены вакуолизация цитоплазмы и увеличение размеров ядер, что характерно для отека изменений нейронов [178]. Электронно-микроскопический и иммуноцитохимический анализ эпителиальных клеток сосудистого сплетения крыс после 14-суточной АОВ установил исчезновение микроворсинок и киноцилий этих клеток, а также снижение

содержания цитоскелетного белка эзрина, участвующего в образовании микроворсинок [179].

Неблагоприятный эффект АОВ ожидаемо проявился и в общем состоянии животных. Если вес крыс КГ увеличился, то подопытные животные потеряли в весе более 20%.

Таким образом, 14-суточное АОВ явилось сильным фактором для крыс, способным вызвать, по крайней мере, у некоторых из них, снижение когнитивных функций и, возможно, замедление темпа физиологической регенерации нейронов.

5.1.2 Структурные и функциональные особенности префронтальной коры мозга крыс, перенёсших инсульт в условиях моделирования эффектов невесомости (Эксперимент 2).

Эксперимент выполнен на нелинейных крысах-самцах массой 220-230 грамм. У крыс вырабатывали условный рефлекс пассивного избегания и обученных животных делили на 2 группы: экспериментальную и контрольную. Животные экспериментальной группы 14 суток находились в АОВ. Контрольную группу - содержали в обычных условиях вивария. На 7-е сутки эксперимента после наркоза (хлоралгидрат 300 мг/кг) у животных обеих групп методом фотоиндуцируемого тромбоза вызывали ишемическое повреждение префронтальной коры головного мозга. После операции животные экспериментальной группы ещё 7 суток находились в условиях АНОВ, а контрольной группы – в виварии. После окончания этого срока у всех животных проверяли сохранность УРПИ. После проверки крыс под хлоралгидратным наркозом декапитировали, извлекали мозг и вырезали кусочки мозга для исследования из участка префронтальной коры, непосредственно прилегавшего к зоне некроза.

Величина латентного периода УРПИ через 7 суток после моделируемого инсульта у животных, находившихся в АОВ и обычных виварийных условиях представлена в таблице 15.

Таблица 15. Латентный период УРПИ после моделируемого инсульта в контрольной и экспериментальной группах (сек).

№ крысы	Контроль	№ крысы	Эксперимент
---------	----------	---------	-------------

8	90	19	1
16	300	14	1
11	300	5	3
12	116	6	260
4	105	18	300
9	99	3	300
10	29	1	300
13	21	2	8
15	42	7	16
Квартиль 75%	116	Квартиль 75%	300
Медиана	99*	Медиана	16*
Квартиль 25%	42	Квартиль 25%	3

* - показатель статистически значимо отличается от фона ($p < 0,05$).

Напомним, что фоновая величина ЛП равнялась - 300 сек, поэтому можно говорить, что индуцируемый инсульт префронтальной коры достоверно вызывает нарушение памяти у крыс обеих групп. Статистической разницы между степенью нарушения когнитивных функций у животных, находившихся в АОВ и животных, находившихся в обычных виварийных условиях нет. Вместе с тем и в контрольной и опытной группе имелись животные с сохранённым УРПИ. Поэтому мы провели анализ соответствия макроскопического вида ишемических очагов префронтальной коры с величиной УРПИ. Результаты представлены в таблице 16. Таблица 16. Сравнительная макроскопическая оценка очага ишемии префронтальной коры и величины ЛП УРПИ.

№ крысы	Локализация очага и степень выраженности		ЛП УРПИ сек.
	Справа	Слева	
19	чёткий	средний	1
14	средний	средний	1
5	нет	слабый	3
6	слабый	нет	260
18	слабый	нет	300
3	нет	слабый	300
1	средний	чёткий	300
2	чёткий	средний	8
7	слабый	нет	16

8	чёткий	слабый	90
16	слабый	нет	300
11	нет	нет	300
12	чёткий	нет	116

Анализ показал, что в ряде случаев имеется несоответствие степени выраженности очага (по макроскопической оценке) и величиной латентного периода, причём как в ту, так и другую сторону. Так у крысы № 5 в правом полушарии очага не было, а в левом – очаг «слабый», при этом ЛП у этого животного равнялся 3 сек. Противоположная ситуация у крысы № 1: правое полушарие – очаг «средний», левое – очаг «чёткий», а ЛП – 300 сек. Иными словами, очевидный инсульт порой не проявлялся нарушением функции.

Морфологическая картина, как в экспериментальной, так и в контрольной группе была так же очень неоднородна. Рассмотрим отдельные морфологические особенности развития зоны инсульта.

Само слово – некроз предусматривает, что в нем находятся мертвые клетки. Но мозг гетерогенная клеточная система и различные клетки, составляющие её, различаются устойчивостью к неблагоприятным факторам среды. Главный повреждающий фактор в нашем эксперименте – гипоксия, как и вообще в большинстве патологических состояний. Поэтому глубина, распространенность некротических изменений различна в отдельных участках, так называемого некроза и зависит не только от чувствительности клеток, но и от состояния сосудистой сети в зоне инсульта. Так на рис. 34 видно существенное обеднение мозговой ткани клеточными элементами, волокна сохранились достаточно полно. Пирамидные нейроны кадра имеют обширные дефекты цитоплазмы, отслоение её от клеточной мембраны. Ядра почти невозможно отличить от цитоплазмы. Хроматин в ядрах глиальных клеток равномерно гиперконденсирован. Судя по структуре все клетки в данном поле зрения – мертвые.

На рисунке 34 (справа), отображающем участок с круглоклеточными нейронами, примерно также выражены деструктивные изменения нейронов, нейропилия и других элементов ткани. Ядра от цитоплазмы отделяются хорошо, но

во всем остальном деформация нейронов выглядит не меньшей, чем на рисунке 34 (слева) и столь же безжизненной представляется вся картина.

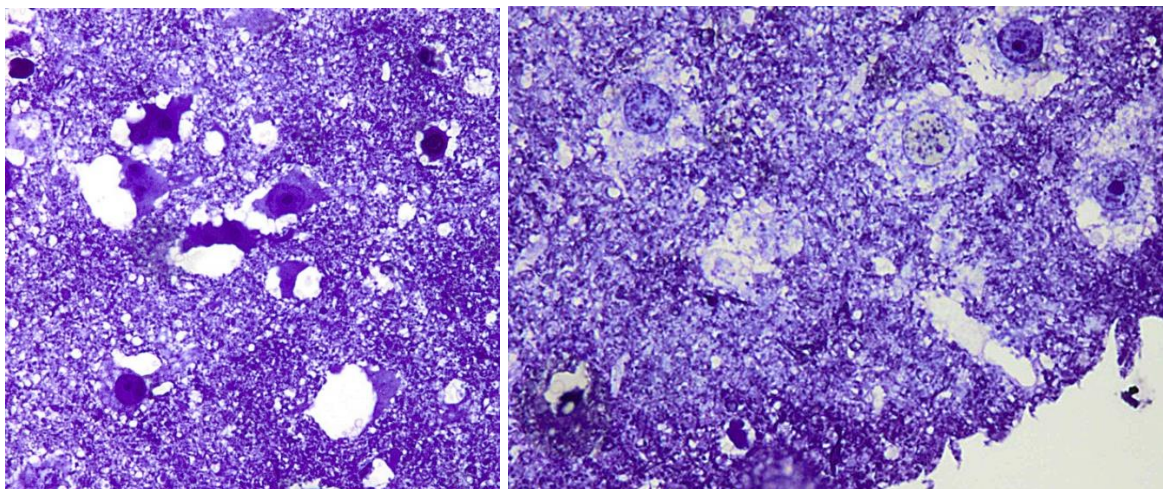


Рисунок 34. (слева) Зона некроза. Сеть нервных волокон достаточно полно сохранилась. Клеток практически нет. Видны лишь остатки нескольких пирамидных нейронов. В них объем клеточного материала значительно меньше полости, ранее занимаемой клеткой. Ядро и цитоплазма почти не различимы. Судя по грубости клеточных разрушений, они все мертвые (увеличение микроскопа $\times 1000$).

Рисунок 34. (справа). Зона некроза, сходная с изображенной на рис. слева, но сохранились лучше остальных клеток круглоклеточные нейроны. В них ядра четко отличимы от цитоплазмы, но в последней много крупных «пустых» (видимо заполненных отечной жидкостью) полостей. Есть остатки клеток, превратившиеся в комки плотного детрита. Без автордиографической проверки зону следует признать мертвой (увеличение микроскопа $\times 1000$).

Необходимо отметить, что оба рисунка разрушают стереотип, что нейроны самый чувствительный к гипоксии клеточный элемент нервной системы. В обоих рисунках нейроны резко изменены, но вполне различимы; другие же типы клеток или отсутствуют или изменены до неузнаваемости.

Использование такого метода как автордиография позволяет даже в зоне выраженного некроза обнаружить живые клетки, в том числе, живые нейроны (рисунок 35). Рисунок 35, демонстрирует сходный с рисунком 34 сильно разрушенный нейропиль, в котором кое-где сохранились остатки клеток, но в то же время показывает, что может быть нейрон со значительной деструкцией, отслоением на большом протяжении клеточной мембраны и, тем не менее,

сохранивший способность синтезировать РНК. Более того, в зоне некроза могут быть обнаружены не только живые (синтезирующие РНК) клетки, но и размножающиеся нервные клетки, такие как астроцит с включением тимидина.

Наверное, на сравнительно небольшой площади живых нейронов может быть и больше, но сколько нейронов нужно для сохранения ЛП УРПИ неизвестно. Такое предположение может быть объяснением расхождения макроскопических и функциональных результатов.

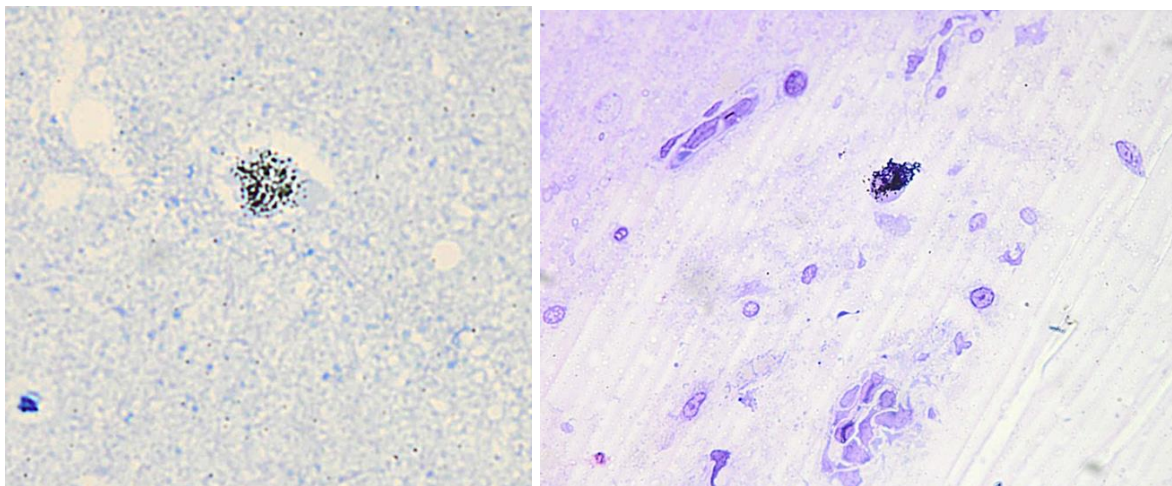


Рисунок 35 (слева). Зона некроза, в которой нет даже разрушенных остатков клеток. А в центре снимка «самая чувствительная к гипоксии» клетка – нейрон, причем с грубыми структурными дефектами (полостями в цитоплазме) жива и синтезирует РНК (x1000).

Рисунок 35 (справа) Проплиферация астроцита в зоне некроза (x1000).

В то же время можно встретить участки некроза с гораздо более грубыми разрушениями: почти полным отсутствием клеток и крайне скудными и дефектными волокнистыми структурами, но и в таких участках могут находиться отдельные живые клетки. Так на рисунке 36 (слева) единственной живой клеткой является плазмоцит в центре кадра.

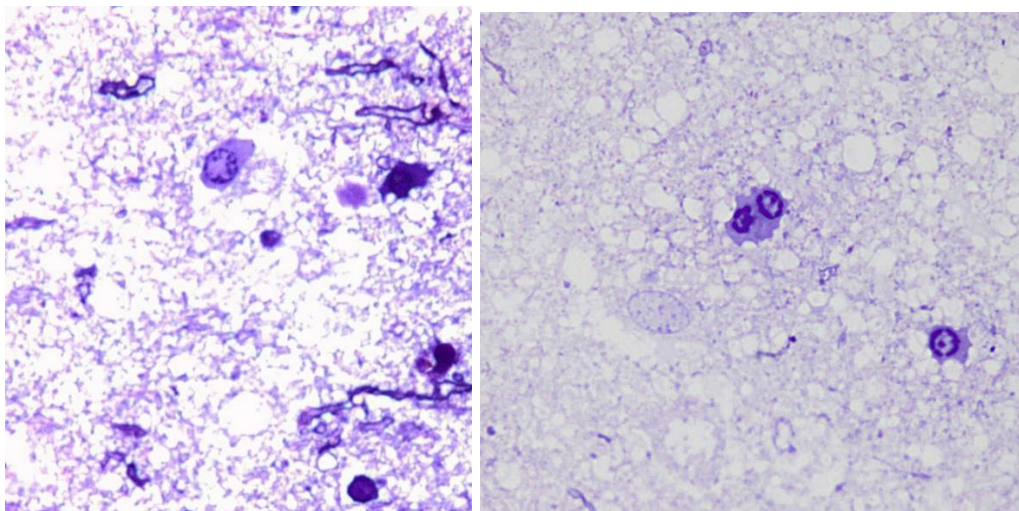


Рисунок 36. (слева) Зона некроза с разрушением основной массы волокнистых структур. Нервных клеток нет вообще, лишь грубо пикноморфные глыбки, по которым невозможно узнать какие это были клетки в прошлом. И в этой массе, безусловно, некротического (в значении мертвого) материала находится абсолютно нормальный по структуре и, конечно, по функции плазмоцит (увеличение микроскопа $\times 1000$).

Рисунок 36. (справа) Зона некроза с чуть меньшей степенью разрушения нейропилия, чем на рисунке 24 (слева); с заметными кое-где «теньями» клеток, и, тем не менее, классифицированная бы любым прозектором как некроз. Но на большинстве препаратов имеется стопроцентно живая, да ещё и редкая клетка – двухъядерный плазмоцит (рядом с ним ещё и одноядерный). Все эти редкости встречены у одного животного контрольной группы. Появление их, по-видимому, связано с нарушением равновесия между пролиферацией и дифференцировкой плазмоцитов, последняя изменяет структуру цитоплазмы (образует гранулярную сеть) так быстро, что разделение цитоплазмы на две одноядерные клетки не успевает произойти ($\times 1000$).

Практически такая же картина на рисунке 36 (справа), где единственными живыми элементами являются только плазмоциты, причем, нередко двухъядерные. Плазмоциты были достаточно частой находкой в срезах в обеих группах. Это может быть признаком активности иммунологических процессов при заживлении индуцированных инсультов. Можно предположить, что большое число двухъядерных плазмоцитов связано с быстрой пролиферацией лимфоцитов, которые не успевают пройти стадию цитотомии после разделения ядер, начинают дифференцировку в плазмочитарном направлении и изменившееся при этом строение цитоплазмы (максимальная в сравнении со всеми другими клетками организма гипертрофия гранулярного эндоплазматического ретикулума) делает уже физически невозможной цитотомию.

Всё, вышеописанное относится в большей степени к повреждающим изменениям и их воздействиям на структуры мозга. Конечно, повреждение и восстановление неразрывно связаны, и изолированно их невозможно ни изучать, ни описывать, поэтому остановимся на тех особенностях заживления, которые развиваются на месте мертвой ткани некроза и превращают её в живую ткань, хотя часто несходную по гистологической номенклатуре с той, что была на участке до инсульта.

Следует отметить, что процесс восстановления в некротическом участке характеризуется активным размножением любых клеток (глиальных, эндотелиальных, вообще сосудистых).

Если характер повреждений в зоне некроза в обеих экспериментальных группах не имеет существенного отличия, то процесс восстановления имеет свои особенности. В контрольной группе отмечена большая активность макрофагов. Нередко в этой группе встречались сосуды, стенка которых была образована только активированными макрофагами с большим числом крупных фагосом (рисунок 37). Стенка сосуда с эритроцитами в просвете образована исключительно макрофагами. Никаких сосудистых клеток не видно. В макрофагах, составляющих сосудистую стенку все пространство клеток, кроме ядра, занято фагосомами. Цитоплазмы макрофагов не видно. Сосуды с макрофагальной стенкой иногда достигают крупного калибра.

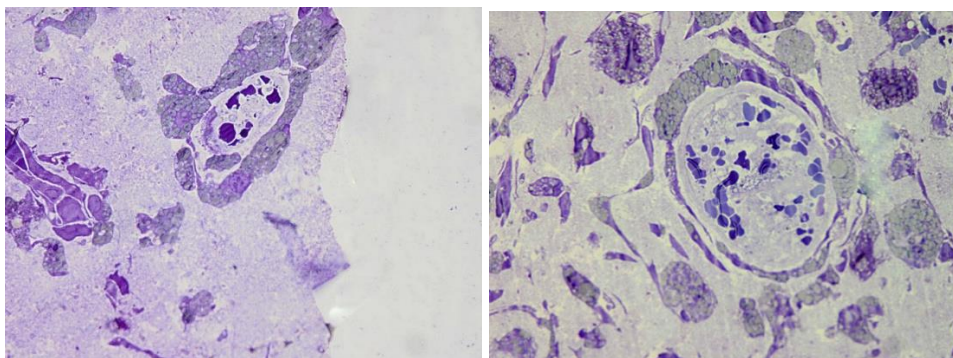


Рисунок 37 (слева). Заживление зоны некроза в контроле. Стенка сосуда состоит только из гипертрофированных макрофагов. В стенке сосуда других клеток нет. В просвете, как и в обычном сосуде - эритроциты (x1000).

Рисунок 37 (справа). Крупный сосуд с необычной «макрофагальной» стенкой (x1000).

В группе АОВ также можно было видеть скопления макрофагов, но они располагались вокруг пролиферирующих сосудов обычного (сосудистого) типа (рисунок 38). В препаратах крыс после АОВ, в целом, чаще встречались пролиферирующие сосуды обычного типа (рисунок 38).

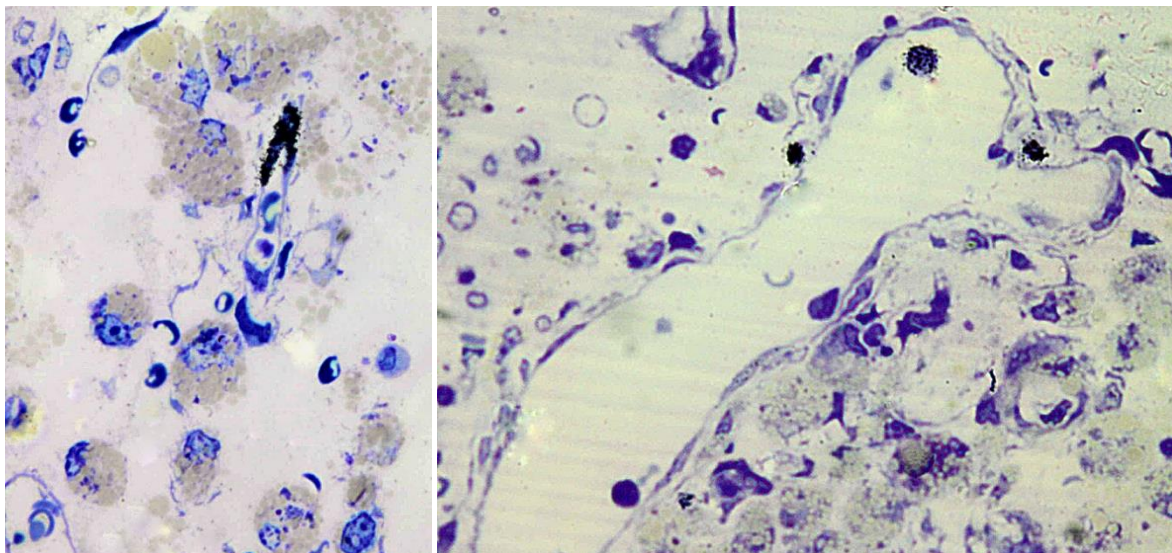


Рисунок 38 (слева). Обилие и высокая активность макрофагов в группе АОВ отличалась отношением к сосудам. Здесь макрофаги образовывали тоже обширные и активные группы, но, как правило, центром их сосредоточения был обычный, т.е. построенный из васкулярных клеток сосуд, хотя, конечно интенсивно пролиферирующий (x1000).

Рисунок 38 (справа). Крупный быстро растущий сосуд (группа АОВ). Хотя питаемая им область (особенно снизу) состоит в основном из макрофагов, стенка самого сосуда привычного сосудистого строения (x1000).

Таким образом, на модели локальной ишемии головного мозга (по морфологическим показателям) получено подтверждение гипотезы о том, что условия невесомости, изменяя функциональное состояние организма, могут формировать особенности ишемического некроза по сравнению с аналогичным состоянием на Земле.

Изменения функционального состояния головного мозга крыс в условиях АОВ проявлялось снижением памяти и уменьшением активности естественных процессов регенерации мозговых клеток. При отсутствии существенной разницы в самом ишемическом повреждении, главные отличия ишемии префронтальной коры после АОВ заключались в процессе восстановления зоны некроза. Так, если

в контрольной группе формирование новых сосудов происходило главным образом при участии макрофагов, то в группе с АОВ чаще встречались пролиферирующие сосуды обычного типа. В настоящий момент трудно предположить механизмы, ответственные за эти процессы и дать им положительную или отрицательную оценку. Однако, поскольку АОВ моделирует переполнение кровью головы, на наш взгляд, именно перераспределение жидких сред может быть ведущим фактором этих изменений.

5.2 Геморрагический некроз.

Разработку модели геморрагического некроза/травматического повреждения головного мозга крыс проводили на взрослых самцах крыс линии Wistar массой 350-400г. Всего было прооперировано 9 животных. По специальной методике, описанной выше, крысам наносили травму головного мозга с формированием зоны геморрагического некроза представленную на рисунке 39. Однако, в первую ночь после операции погибло – 3 животных. Таким образом, для морфологического анализа и функциональных тестов использовали 6 крыс. Погибшие животные были посмертно вскрыты. Наблюдали обширное эпидуральное и субдуральное кровоизлияние в левом полушарии головного мозга. Размер очага колебался от половины до двух третей коры левого полушария по площади. При морфологическом анализе фронтальных срезов головного мозга погибших крыс установили, что кровоизлияние затрагивало только кору полушария, не проникая в белое вещество и в желудочки.

Функциональные тесты проводили на 7 день после операции на установке «Beam walking» для крыс [ООО «НПК Открытая Наука»]. Животных выводили из эксперимента через 7 дней. Под эфирным наркозом проводили транскардиальную перфузию мозга. Катетер перфузирующей системы вводили в левый желудочек сердца крысы и пропускали через него последовательно 15 мл физраствора и 10мл 4% раствора параформальдегида на ФБС. Эвтаназию осуществляли методом передозировки эфирного наркоза. Окраску препаратов проводили по специальной методике, разработанной в лаборатории проф. Пальцына А.А. (ФГБУН НИИ ОПП РАН).

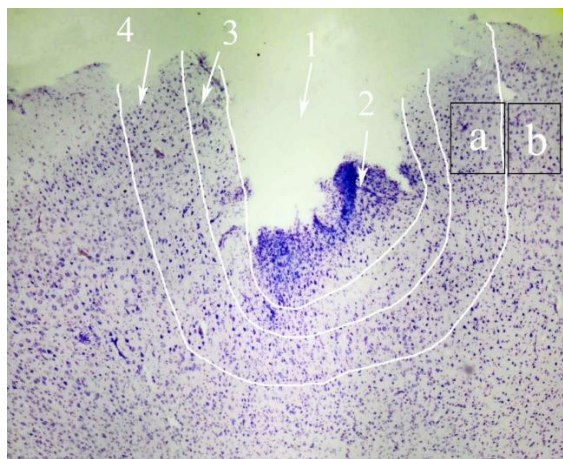


Рисунок 39. Центр инсульта и окружающие зоны в коре. 1- трансплантат (теряющийся при гистологической обработке); 2 – инфильтрат (иногда частично теряющийся); 3 – пенумбра; 4 – пограничная зона. Прямоугольниками отмечены участки коры, в которых определяли содержание двухъядерных клеток. а – в пограничной зоне; b – в прилегающей коре. Масштаб 300мкм.

5.2.1 Структурные и функциональные особенности моторной зоны коры левого полушария мозга крыс (поле S1FL), перенёсших геморрагический некроз/травму в условиях моделирования эффектов невесомости.

Эксперимент проводили на 75 взрослых самцах крыс линии Wistar массой 350-400 г. Все животные были распределены на 6 групп в зависимости от времени и продолжительности воздействия АОВ и состава трансплантата. Структура экспериментальных групп представлена в таблице 17.

Таблица 17. Состав экспериментальных групп и условия эксперимента.

№ группы	Количество животных Прооперировано/выжило	Послеоперационная смертность	Состав трансплантата	АОВ
1	9/6	33%	Коллагеновая губка + бесклеточная плазма	виварий
2	12/8	33%	Коллагеновая губка + плазма обогащенная тромбоцитами	виварий
3	24/6	75%	Коллагеновая губка + плазма обогащенная тромбоцитами	7 суток АОВ после операции

4	12/7	42%	Коллагеновая губка + плазма обогащенная тромбоцитами	7 суток АОВ перед операцией
5	8/7	12,5%	Коллагеновая губка + плазма обогащенная тромбоцитами	2 суток АОВ перед операцией
6 (контроль)	10/10 Операции не было	0%	-	виварий

Стандартное повреждающее воздействие – введение трансплантата объемом 300µl содержащего коллагеновую губку и бесклеточную плазму кролика – группа 1. Помимо воздействия различных сроков вывешивания мы исследовали влияние на регенерацию стимуляторов ангиогенеза, за счет введения в трансплантат плазмы обогащенной тромбоцитами. Поэтому во всех группах кроме 1 и 6 (контрольной) в состав трансплантата вместо бесклеточной плазмы вводили плазму обогащенную тромбоцитами (PRP). В группах 3-5 дополнительно помещали животных в условия АОВ. Группа 3 (7 дней АОВ после инсульта) - затруднение оттока из головы, усиление повреждающего воздействия. Группа 4 (7 дней АОВ перед инсультом) после операции животные помещались в виварийные условия. Группа 5 (2 дня АОВ перед инсультом) после операции животные помещались в виварийные условия. Создание геморрагического инсульта проявлялось парезом правой передней лапки у всех оперированных животных.

Всех животных выводили из эксперимента через 7 суток после операции. Перед этим проводили функциональные тесты на установке «Beam walking» для крыс. Подготовку и проводку морфологических препаратов проводили по методике описанной выше.

Оценка двигательной функции у крыс различных групп представлена на рисунке 40.

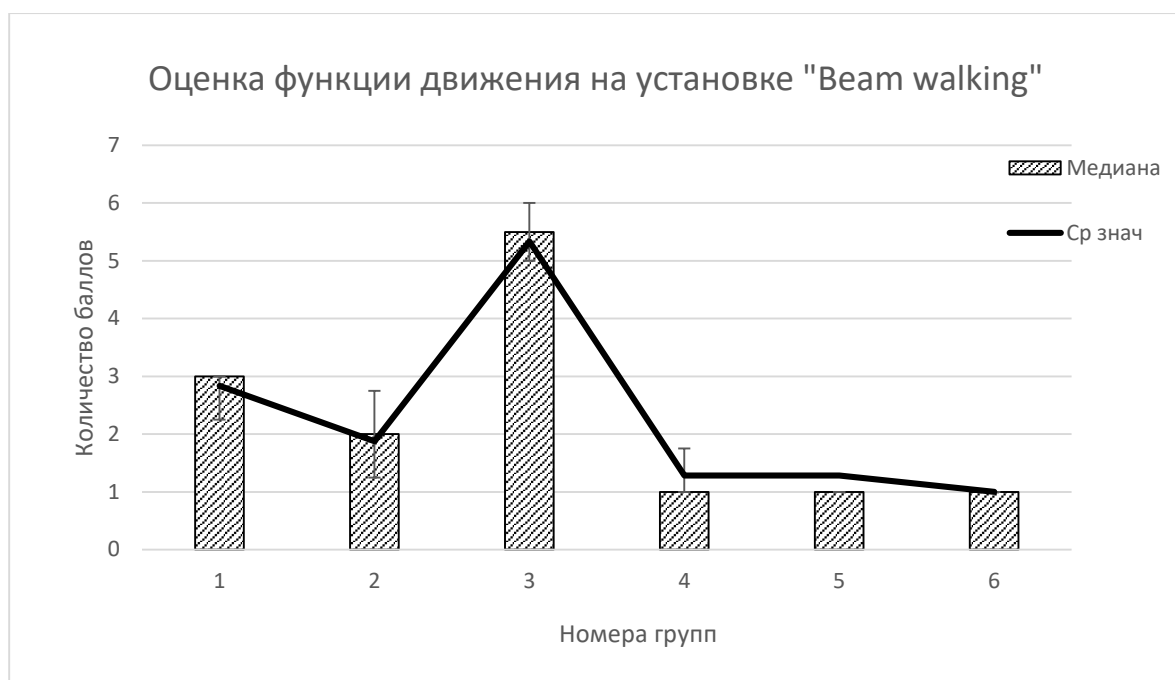


Рисунок 40. Оценка функции движения через неделю после индукции инсульта у крыс различных групп и в контроле (6 группа) оценка – 1 балл).

Наиболее грубые нарушения двигательной функции отмечены в 3 группе, в которой животные в послеоперационном периоде 7 суток находились в условиях АОВ. Также в этой группе отмечена самая высокая смертность в первые 24 часа после операции. Она составила 75%. В качестве положительного момента можно отметить некоторое положительное действие PRP в составе трансплантата на двигательную функцию. Любопытным, с нашей точки зрения, является отсутствие влияния АОВ предшествующего травме на двигательные нарушения (группы 4 и 5). Через 7 суток после операции двигательная функция практически полностью восстанавливалась и не отличалась от контрольной группы. Тем не менее, обращает на себя внимание существенно более высокая послеоперационная смертность в группе 4, где операции предшествовало более длительное вывешивание (7 суток).

Микроскопия ткани головного мозга крыс 1 экспериментальной группы выявила признаки нарушения кровообращения на 7 день после индукции инсульта. На рисунке 41(а) можно видеть большое количество свободных эритроцитов в тканях и множество макрофагов.

Эритроциты вне сосудов определяли не только в зоне инфильтрата, но и в зоне «полутени» и в пограничной зоне. Также можно отметить появление

новообразованных сосудов, как в зоне инфильтрата, так и в пенумбре. Однако, они встречались достаточно редко, имели небольшой диаметр и были представлены в основном капиллярами. В пограничной зоне изменения со стороны сосудистой сети отсутствовали.

Во второй группе количество вновь образованных сосудов в зоне пенумбры было существенно больше, чем в первой группе (рисунок 41(е)). Сосуды были более зрелыми, обладали большим диаметром и, наряду с капиллярами, были представлены артериолами и венами (рисунок 41 (f)). Также была выявлена гипертрофия сосудов в пограничной зоне (рисунок 41 (h)). Интересным отличием от первой группы стало присутствие большого количества макрофагов в исследуемых препаратах. Зачастую они размещались в стенках сосудов (рисунок 41 (g)) и у многих из них присутствовали специфические зелёные гранулы.

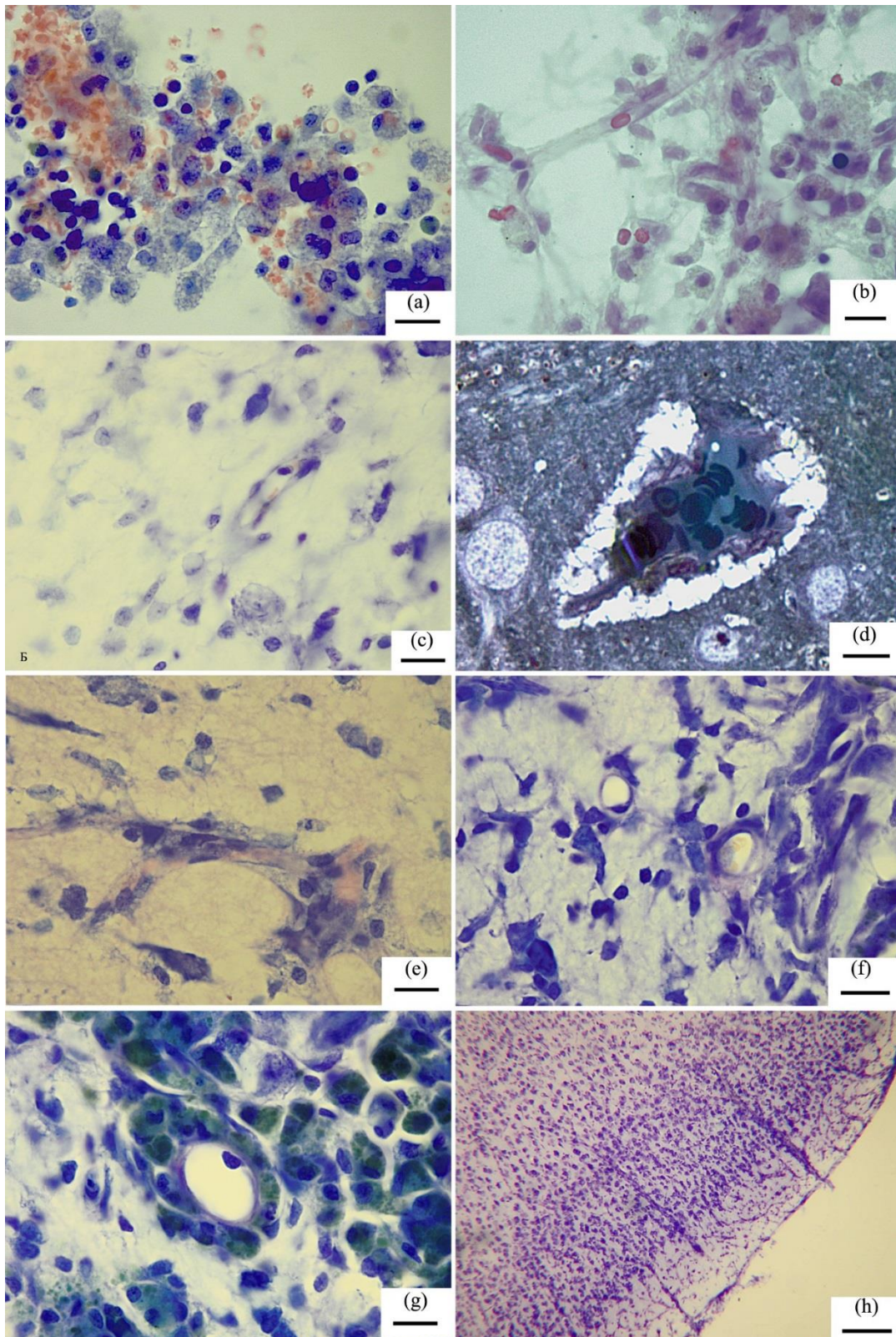


Рисунок 41. **(a)** Первая группа. Экстравазат, состоящий из эритроцитов и макрофагов с цитоплазмой, заполненной гранулами.

(b) Первая группа. Новообразованный сосуд (капилляр) и макрофаги в зоне инфильтрата.

(c) Первая группа. Зона пенумбры. Определяется клеточный инфильтрат, сохранившийся нейрон и новообразованный капилляр.

(d) Первая группа. Зона пенумбры (полутонкий срез). В центре изображения сосуд с утолщенной стенкой, макрофагальная муфта отсутствует, отмечается периваскулярный отек.

(e) Вторая группа. Зона инфильтрата. Полнокровные кровеносные сосуды.

(f) Вторая группа. Зона пенумбры. Среди клеток инфильтрата определяются 2 венулы небольшого диаметра, стенки одной из них утолщены.

(g) Вторая группа. Зона инфильтрата. Макрофагальная инфильтрация. Все макрофаги содержат зелёные гранулы. Вокруг достаточно крупного сосуда можно увидеть макрофагальную муфту.

(h) Вторая группа. Изображение наружной коры с выраженной инфильтрацией. Кровеносные сосуды гипертрофированы.

В третьей группе, животные которой подверглись вывешиванию после индукции инсульта, морфологическая картина характеризовалась максимально выраженными нарушениями кровообращения. Отмечено большое количество экстравазатов, практически не встречавшихся в группе 2 (рисунок 42 (a), (d)). На срезах большое количество продольно срезанных капилляров, которые стали видимы из-за нарушения оттока и стаза крови. При этом циркуляторные нарушения наблюдали не только в пенумбре и пограничной зоне, но и в нормальной коре прилегающей к очагу повреждения (рисунок 42 (b), (c)).

Вероятнее всего, появление в зоне повреждения специфических макрофагов с зелёными гранулами связано с действием тромбоцитов и состава вводимого трансплантата. В группе номер 1, где в состав трансплантата входила обычная плазма, таких макрофагов не выявлено. В то же время, в группах с плазмой обогащенной тромбоцитами (2, 3, 4 и 5 группы) такие макрофаги выявлялись постоянно (рисунок 41 (f), рисунок 42 (d), (f)). Одним из отличий макрофагов в группах был цвет гранул. Так макрофаги, связанные с сосудами и зачастую образующими своеобразную муфту вокруг их стенок, имели зелёные гранулы и тёмную цитоплазму (рисунок 42 (e), (f)). Свободно лежащие макрофаги чаще имели в своей цитоплазме светлые гранулы (рисунок 42 (d)). Отчетливо проявляющаяся преимущественная локализация макрофагов с зелеными гранулами около сосудов и даже в их стенке дает основание предположить, что это активированные

микроглиоциты. Нет цитохимических маркеров, позволяющих различить активированную микроглию от активированных моноцитов. Поэтому метакроматический эффект нашей методики окраски пока единственный морфологический признак специфического действия тромбоцитов в очаге.

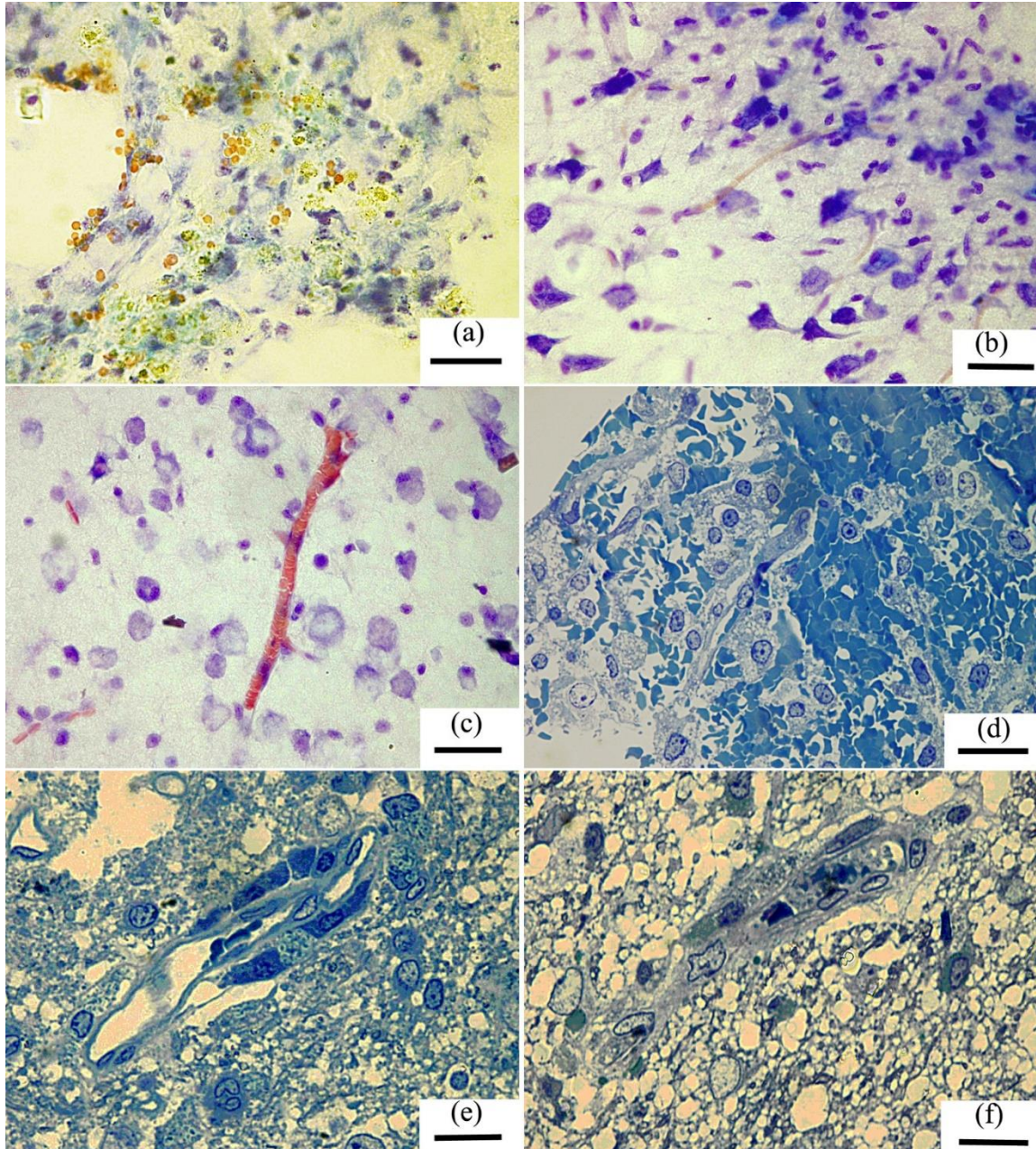


Рисунок 42. **(a)** Третья группа. Зона инфильтрата. Экстравазаты из эритроцитов. Макрофаги с зелёными гранулами х600.

(b)) Третья группа. Пограничная зона. Расширенные полнокровные капилляры х600.

(c) Третья группа. Зона нормальной коры, прилегающая к очагу повреждения. В центре кадра виден капилляр с эритроцитарным сладжем х600.

(d) Третья группа. Полутонкий срез. В экстравазате видны макрофаги, содержащие в цитоплазме светлые гранулы х1000.

(e) Третья группа. Зона инфильтрата. Полутонкий срез. В центре кадра сосуд с макрофагальной муфтой. Макрофаги с тёмной цитоплазмой и зелёными гранулами x1000.

(f) Вторая группа. Зона инфильтрата. Полутонкий срез. Вокруг сосуда макрофагальная муфта из клеток с тёмной цитоплазмой и зелёными гранулами x1000.

Процесс образования сосудов в четвёртой группе, в отличие от групп 1 и 3, шёл более активно. Новообразованных сосудов было большее количество (рисунок 43(a)) и представлены они были не только капиллярами, но и артериолами и венами (рисунок 43 (a), (d)). В этой группе АОВ в течение недели предшествовало индукции инсульта, а после операции животные возвращались в условия вивария.

Несмотря на более активные процессы восстановления, о чём свидетельствуют вновь образованные сосуды, в зоне пенумбры встречалось достаточно большое количество экстравазатов, занимавших существенную площадь. При этом надо отметить, что эритроциты не образовывали плотные скопления (рисунок 43 (b)). Большая часть свободно лежащих эритроцитов находилась в зоне пенумбры, в пограничной зоне коры и в зоне инфильтрата они выявлялись в крайне редко (рисунок 43 (a)).

Стаз крови как в капиллярах, так и в сосудах большего диаметра в этой группе не выявили и экстравазаты оставались единственным признаком циркуляторных нарушений.

Как во всех группах с использованием в качестве трансплантата PRP, количество макрофагов в инфильтрате было большое. При этом свободно лежащие макрофаги были как с тёмной, так и со светлой цитоплазмой. В макрофагах с тёмной цитоплазмой, в основном определяли зелёные гранулы, но их количество было меньше, чем в группе 2 (виварийный инсульт) и приближалось к 3 группе (рисунок 43 (c)), в которой крыс вывешивали после операции.

Также как и в группах 2 и 3 макрофаги, связанные с вновь образованными кровеносными сосудами и образующие вокруг них муфты, преимущественно содержали тёмную цитоплазму (рисунок 43 (d)).

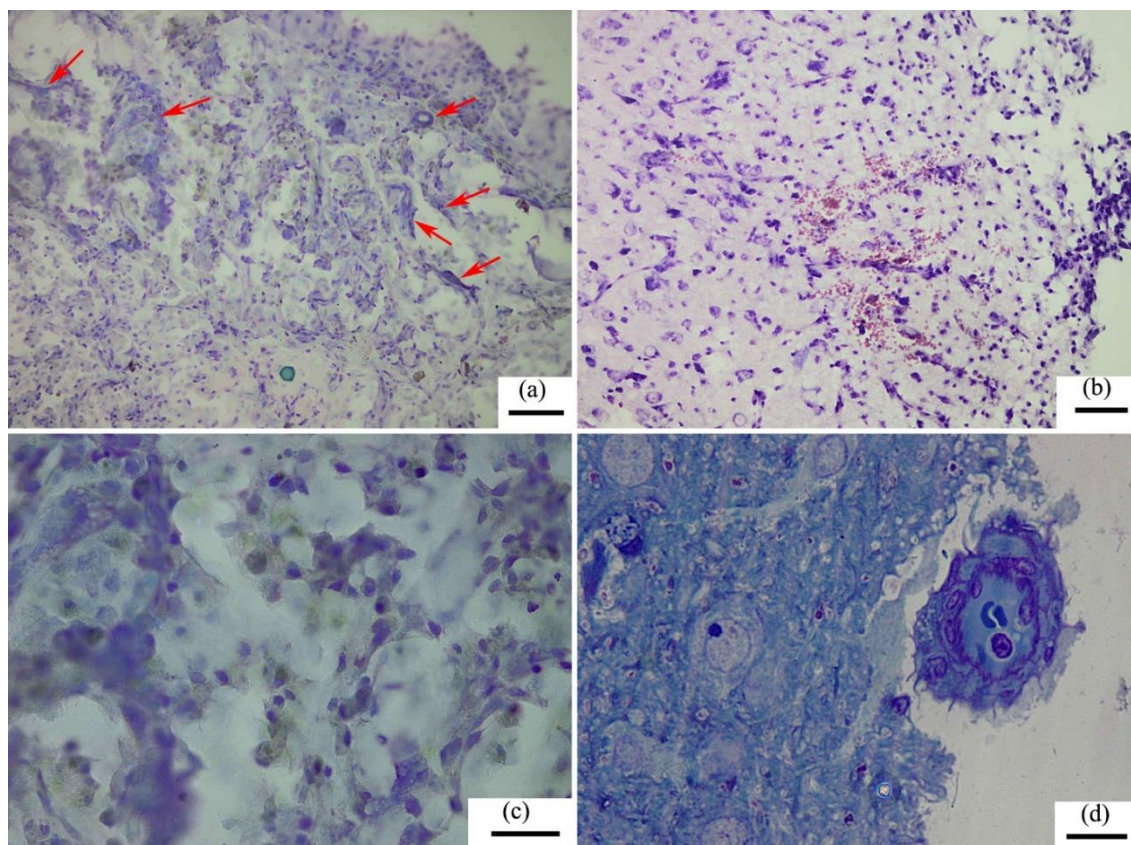


Рисунок 43. **(a)** Четвёртая группа. Зона инфильтрата. Вновь образованные артериолы отмечены стрелками, x200.

(b) Четвёртая группа. Зона пенумбры. Экстравазат состоящий из рыхло лежащих, свободных эритроцитов, x200.

(c) Четвёртая группа. Зона инфильтрата. Свободно лежащие макрофаги, как со светлыми, так и с зелёными гранулами, x600.

(d) Четвёртая группа. Полутонкий срез. Зона пенумбры. Сосуд с гипертрофированной стенкой. Макрофаги с тёмной цитоплазмой входят в состав сосудистой стенки, x1000.

Наиболее благоприятная морфологическая картина отмечена в группе 5. Количество вновь образованных сосудов было максимальным по сравнению с другими экспериментальными группами. Новообразованные сосуды присутствовали и в зоне инфильтрата, где они были представлены капиллярами и венулами и в зоне пенумбры, где встречались артериолы, а капилляры и венулы были более зрелыми, большего диаметра (рисунок 44 (a),(b),(c)).

Ещё одним отличием 5 группы стало наличие среди «сосудистых» макрофагов клеток со светлой цитоплазмой, чего не отмечено ни в одной из групп. Макрофаги с тёмной цитоплазмой и зелёными гранулами также выявляли, но в

существенно меньшем количестве, по сравнению с другими группами (рисунок 44 (d)).

Экстравазатов, стаза крови расширения сосудов и других нарушений микроциркуляции в этой группе отмечено не было.

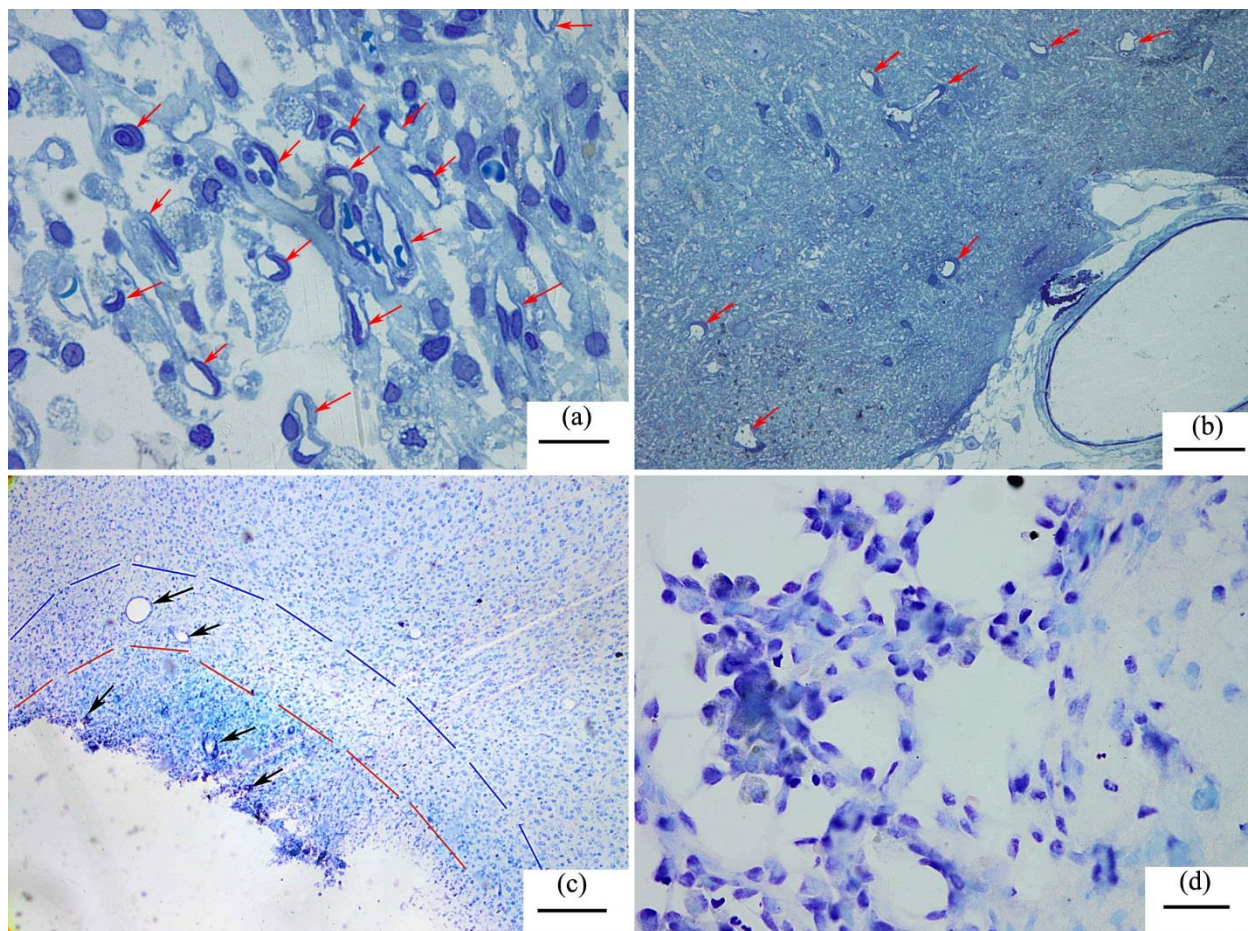


Рисунок 44. **(a)** Пятая группа. Полутонкий срез. Зона инфильтрата. Красными стрелками обозначены вновь образованные капилляры и венул, $\times 1000$.

(b) Пятая группа. Полутонкий срез. Зона пенумбры. Стрелками обозначены вновь образованные сосуды, $\times 600$.

(c) Пятая группа. Общий вид зоны повреждения. Чёрными стрелками обозначены вновь образованные сосуды в инфильтрате и зоне пенумбры. Зона инфильтрата отмечена красным пунктиром, зона пенумбры – синим, $\times 40$.

(d) Пятая группа. Инфильтрат. Можно видеть макрофаги преимущественно со светлыми гранулами, единичные клетки с зелёными гранулами, $\times 600$.

Распространённость инфильтрата вокруг очага повреждения и его клеточный состав схожи во всех экспериментальных группах, в которых в состав трансплантата входила PRP. Отличие имеет только группа 1, где использовали бесклеточную плазму. Она отличается существенно меньшим распространением инфильтрата в окружающую повреждение область, узкой зоной полутени и практически полным отсутствием макрофагов в составе клеточной стенки вновь образованных сосудов (рисунок 41 (с), (d)).

У крыс во всех группах, как в контрольной, так и в экспериментальных в окружающей очаг повреждения коре обнаруживали двухъядерные нейроны. Наряду с нормальной корой, прилегающей к очагу поражения, на наличие двухъядерных нейронов рассматривали и пограничную зону очага. В толстых срезах наличие двухъядерных клеток можно было бы объяснить эффектом наложения, но и в полутонких срезах такие нейроны встречались, при этом они были как с одинаковыми, так и разными ядрами. По своему происхождению это были ядра нейрона и олигодендроцита. Ядра олигодендроцитов в нейронах имели разный вид с постепенным увеличением сходства с ядрами нейронов, на основании которого, можно сделать вывод о поэтапном пронеурональном перепрограммировании рисунок 45.

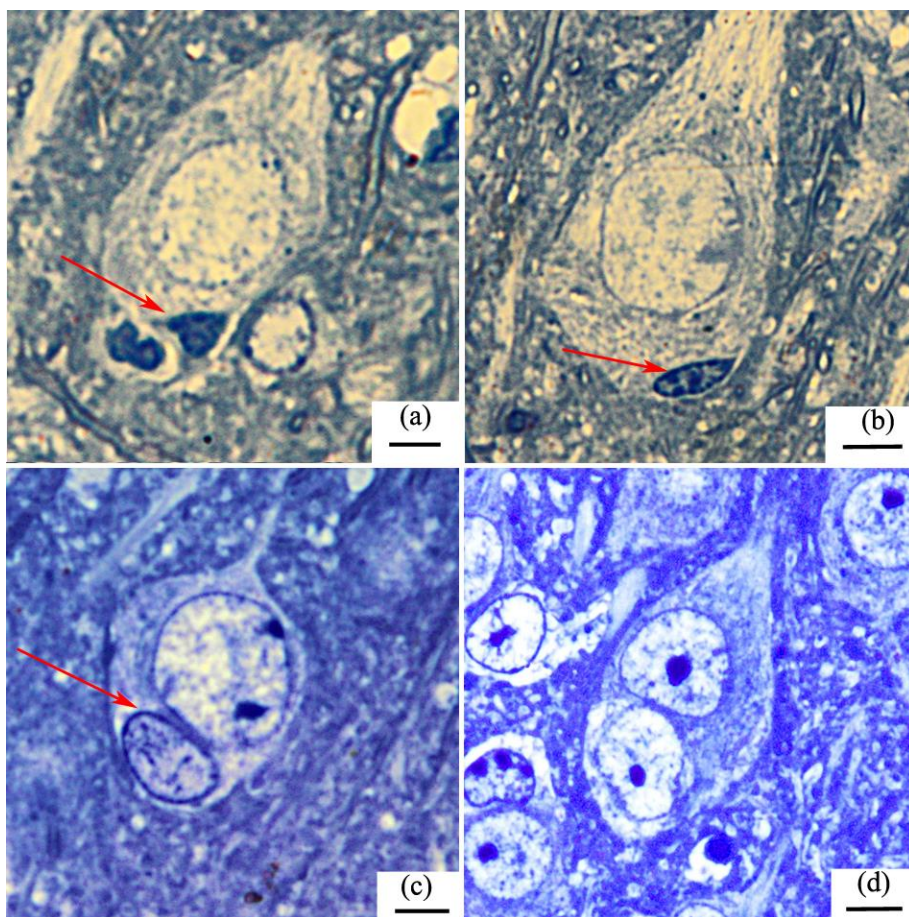


Рисунок 45. Отдельные этапы proneйронального перепрограммирования ядра олигодендроцита.

(a) Состояние ядра олигодендроцита после его слияния с нейроном. Ядро (указано стрелкой) небольшого размера, хроматин не структурирован.

(b) Следующий этап перепрограммирования. Ядро увеличилось незначительно (указано стрелкой), однако, произошло структурирование хроматина на гетеро- и эухроматин

(c) Существенное увеличение ядра олигодендроцита (указано стрелкой), хотя оно ещё меньше, чем собственное ядро нейрона.

(d) Перепрограммирование практически завершено. Из клетки с двумя разными ядрами (гетерокариона) нейрон превратился в дикарион (два одинаковых ядра).

Пронейрональное репрограммирование ядра олигодендроцита подтверждает ранее полученные данные о регенераторной роли слияния клеток мозга [176, 177]. Исходя из этого, активность восстановительных процессов можно оценить по количеству слияний в тканях, примыкающих к очагу некроза. Зоны в которых производили подсчёт изображены на рисунке 39. В полутонких срезах считали количество ди- и гетерокарионов. Затем с помощью программы Cell F измеряли

площадь среза. Разделив площадь на число двухъядерных клеток, устанавливали (в mm^2) среднюю площадь, на которой встречается одна двухъядерная клетка. Результаты сравнивали по критерию Вилкоксона. Достоверной считали величину $p < 0,01$. Статистические результаты представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (таблица 18).

Таблица 18. Площадь занимаемая одной двухъядерной клеткой

Группа	Зона подсчёта	Средняя площадь среза, занимаемая одним двухъядерным нейроном, mm^2
1	a	$0,284 \pm 0,0069$
	b	$0,253 \pm 0,0154$
2	a	$0,251 \pm 0,0005$
	b	$0,233 \pm 0,0004$
3	a	$0,188 \pm 0,0002^*$
	b	$0,186 \pm 0,0013^*$
4	a	$0,295 \pm 0,0962$
	b	$0,302 \pm 0,0473$
5	a	$0,196 \pm 0,0022^*$
	b	$0,181 \pm 0,0078^*$
	Противоположное полушарие	$0,316 \pm 0,0336$
6 (контроль)		$0,314 \pm 0,033$

* - показатель статистически значимо отличается от контроля ($p < 0,01$).

Статистически значимые отличия от контроля определяются в группе 3, с наиболее тяжёлой морфологической картиной, когда вывешивание последовало за индукцией инсульта и в группе 5, в которой короткое АОВ предшествовало повреждению. При этом в группе 5 провели дополнительное сравнение с противоположным (неповреждённым) полушарием головного мозга и также выявили статистически значимое отличие.

Таким образом, в группах 3 и 5 содержание двухъядерных клеток в пограничной зоне инсульта оказалось достоверно выше, чем в коре интактных животных. В пятой группе, выявленные изменения в плотности расположения двухъядерных нейронов сочетались с минимальной смертностью и полным отсутствием нарушений двигательной функции, через 7 суток после инсульта.

Морфологическое исследование обнаружило у животных этой группы благоприятные изменения циркуляции в очаге инсульта: отсутствие кровоизлияний, стаза крови и густую сеть новообразованных сосудов. В этой группе обусловленность увеличения числа слияний повреждением доказывается ещё подсчетом двухъядерных клеток в контралатеральном полушарии тех же животных. Частота слияний на стороне повреждения была достоверно выше. Процесс регенерации запускается повреждением и формально, чем сильнее повреждение (стимул), тем выраженнее должны быть процессы восстановления. В действительности так не бывает. Повреждение не только запускает регенераторную реакцию, но и тормозит её патогенными изменениями в очаге: гипоксия, активные формы кислорода, провоспалительные цитокины, механический стресс. В итоге выраженность регенераторной реакции в патологическом процессе всегда есть соотношение стимулирующих и тормозящих регенераторную реакцию факторов. В группе 5 соотношение сформировалось в пользу регенерации, что соответственно проявилось морфологически и функционально.

В группе 3 мы видим обратную картину. Помещение животных после создания инсульта в условия АОВ увеличило приток и затруднило отток крови в очаге, усилило главный патогенный фактор некроза. В результате увеличились кровоизлияния, резко возросла летальность. Застой крови в сосудах распространился за пределы пограничной зоны в неповрежденную, по другим морфологическим характеристикам, кору. Значительное повреждение даже в этих, подавляющих регенерацию, условиях запустило заметную регенераторную реакцию и достоверно увеличило содержание двухъядерных нейронов. Однако эта регенерация оказалась недостаточной в условиях такого грубого разрушения и не обеспечила заметного улучшения нарушенной функции в обусловленный экспериментом срок.

В группах 4 и 5 животных перед созданием инсульта помещали в условия, изменяющие кровенаполнение в сосудах мозга. Скорость восстановления функции в этих группах была высокой и одинаковой. Однако в группе 5 содержание

двухядерных нейронов оказалось выше. Морфологические показатели состояния очага свидетельствовали о меньшей деструкции и большем развитии сосудистой сети. Отличие этих групп было в продолжительности АОВ. Общий хороший результат, но значительно выраженный в группе 5 мы объясняем тем, что микрогравитация повышает венозное давление и этим способствует раскрытию или расширению коллатералей и анастомозов. Эти изменения наступают быстро после включения микрогравитации. Они увеличивают циркуляцию. При более продолжительном действии микрогравитации начинают сказываться неблагоприятные последствия увеличенного венозного давления: снижение эластичности сосудистой стенки, отек. Кроме того, при более продолжительном АОВ сильнее проявляется отрицательное действие гипокинезии. Положительный эффект кратковременного перераспределения крови в краниальном направлении, перед возникновением инсульта, на восстановление нарушенных функций и регенеративные процессы в зоне повреждения, на наш взгляд, является перспективным направлением дальнейших исследований для совершенствования терапии инсульта в клинике.

ГЛАВА 6. ОСОБЕННОСТИ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ И ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО ГАЗООБМЕНА ПРИ ГИПОВОЛЕМИИ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭФФЕКТОВ МИКРОГРАВИТАЦИИ.

Одним из первых эффектов космического полета, сопровождающих адаптацию космонавта к условиям микрогравитации, является снижение объема циркулирующей крови (ОЦК). Пусковым механизмом целого каскада физиологических реакций, приводящих к этому, становится перераспределение жидких сред в организме в краниальном направлении. Эти процессы всесторонне изучены, как в условиях КП, так и в наземных модельных экспериментах. Однако, практически не исследовались ситуации, в которых на «физиологическую» потерю жидкости наслаивается дополнительная гипогидратация.

Многие патологические процессы сопровождаются гипогидратацией и снижением ОЦК. При воспалительных заболеваниях происходит увеличение перспирационных потерь вследствие гипертермии и повышения потоотделения; заболевания ЖКТ могут сопровождаться рвотой и диареей, которые также вызывают дополнительные потери жидкости, наконец, травма может сопровождаться кровопотерей, которая приводит к прямому снижению ОЦК. Поскольку изучение особенностей развития типовых патологических процессов в условиях микрогравитации является основной задачей в нашем исследовании, мы оценили влияние дополнительных потерь жидкости на фоне моделирования эффектов невесомости на состояние микроциркуляции и показатели газов крови.

Все жидкостные компартменты в организме связаны между собой и вода перераспределяется, как между отдельными регионами тела (голова, верхние и нижние конечности итд.), так и между внутри и внеклеточными пространствами, внутрисосудистой (плазма) и интерстициальной жидкостью.

Как физиологические, так и патологические потери жидкости (за исключением прямой крово- и плазмпотери через раневую поверхность) происходят тремя путями: почки, желудочно-кишечный тракт и перспирация (легкие, кожа).

Основным механизмом снижения ОЦК как в невесомости, так и в наземных моделях является увеличение диуреза. Дополнительные потери жидкости, в нашем исследовании, также моделировали за счет увеличения диуреза после внутривенного введения раствора фуросемида в дозе 20 мг.

Эксперимент проводили с участием 15-ти мужчин-добровольцев в возрасте от 20 до 35 лет. В качестве модели микрогравитации использовали АНОГ с углом -15° , в течение 21 часа. Фуросемид вводили на 14-м часу эксперимента.

Фоновые исследования, точка "Фон", проводили между 18.00 и 21.00. АНОГ начинали в 21.00. Следующие измерения, точка "Утро", проводили в 9.00. Через 17 часов регистрировали данные в точке "День" и еще через 4 часа перед завершением АНОГ проводили регистрацию параметров в точке "Вечер".

Изменения водного баланса и потерю жидкости регистрировали с помощью оценки водных секторов методом импедансометрии и подсчета баланса выпитой/выделенной жидкости. Помимо этого, оценивали микроциркуляторные изменения, динамику показателей сердечно-сосудистой системы и периферический газообмен по уровням углекислого газа и кислорода в венозной и капиллярной крови.

Результаты потребления и выделения жидкости (по данным протоколов испытаний).

При подсчете диуреза весь период эксперимента был разделен на 2 отрезка: воздействие АНОГ (с 1 по 13 час гипокинезии) и АНОГ+фуросемид (с 14 по 21 час гипокинезии).

Первый отрезок, характеризовался нулевым водным балансом. В среднем было выпито $632,7 \pm 141,9$ мл, выделено – $667,7 \pm 427,9$ мл. Однако, нужно учитывать, что при анализе выделенной жидкости не учитывался объем мочи, который выделяли испытуемые непосредственно перед началом гипокинезии. Объем жидкости не учитывали, поскольку не было известно количество потребленной жидкости до момента начала АНОГ. Все испытуемые перед закладкой в АНОГ посещали туалет. Помимо этого, нужно учесть, что в ночное время темп диуреза снижается.

В то же время, за первый отрезок эксперимента испытуемые дважды принимали жидкость: вечерний чай и завтрак.

Всё это привело к тому, что характерный для микрогравитации и АНОГ отрицательный водный баланс на этом отрезке не подтверждается.

Второй отрезок, после введения диуретика, характеризовался отчетливым отрицательным водным балансом. В среднем было выпито $1100,7 \pm 183,1$ мл, а выделено – $1624,3 \pm 297,8$ мл жидкости.

Таким образом, можно утверждать, что у всех испытуемых был создан дефицит жидкости в организме на фоне воздействия АНОГ.

6.1 Результаты анализа водных секторов по методу импедансометрии.

Исследование включало полисегментный анализ семи регионов вдоль вертикальной оси тела: голова, область грудной клетки, абдоминальная область, отдельно правая и левая верхние конечности (при обработке результатов исследований объемы жидкостей двух верхних конечностей суммировались), и отдельно правая и левая нижние конечности (при обработке результатов исследований объемы жидкостей двух нижних конечностей суммировались).

Оценивали перераспределение жидкости в следующих жидкостных компартментах: внеклеточная жидкость (ВКЖ), клеточная жидкость (КЖ) и общая жидкость (ОЖ).

Регистрацию 2-х минутных отрезков импедансограмм проводили в фоновом периоде («фон»), на 12-ом («утро»), на 17-ом («день») и 20-ом («вечер») часу эксперимента. Регистрировали объемы водных секторов вышеуказанных регионов тела, а также количественное увеличение или уменьшение этих объемов.

6.1.1 Изменения объемов жидкости в области нижних конечностей.

В течение первых 12 часов АНОГ (период «фон» - «утро») в области нижних конечностей произошло уменьшение объемов ОЖ (в среднем на -11,84%) как за счет ВКЖ (в среднем на -14,52%), так и за счет КЖ (в среднем на -9,95%); введение диуретика в периоде «утро» - «день» повлекло за собой потерю жидкости в среднем еще на 3-5%. Отметим, что потери в секторе ВКЖ в обоих периодах несколько больше, чем в секторе КЖ на 3-5% (рисунок 46).

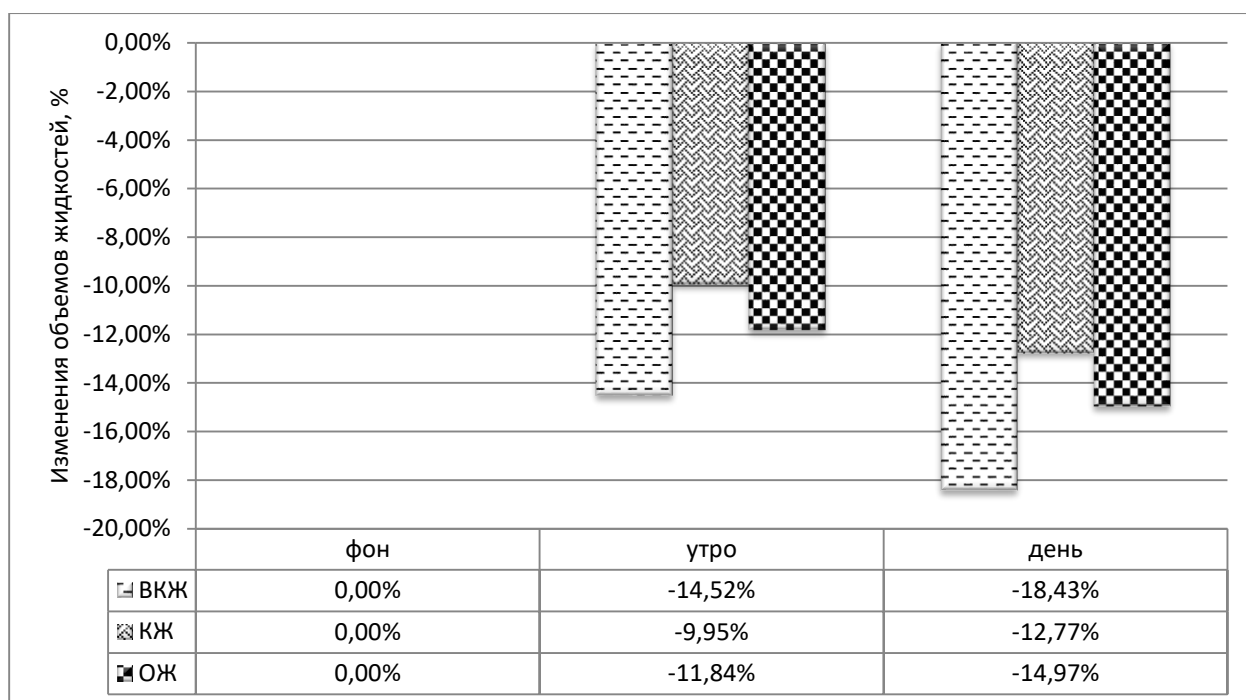


Рисунок 46. Изменения средних значений объемов жидкостей в области нижних конечностей

При проверке распределений выборок данных на нормальность, выяснилось, что большинство из них не согласуются с нормальным законом распределения.

С помощью непараметрического критерия Вилкоксона для парных измерений были обнаружены различия с уровнем значимости $p < 0,05$ между точками «фон» - «утро» и точками «утро» - «день» в каждом из изучаемых жидкостных компартментов.

6.1.2 Изменения объемов жидкости в области головы.

В области головы в первые 12 часов эксперимента произошло увеличение объемов жидкости, что подтверждает перераспределение жидкости в краниальном направлении в модели микрогравитации: ОЖ – в среднем на 6,33%, ВКЖ – в среднем на 8,28% КЖ – в среднем на 5,71%; после введения диуретического препарата объемы всех жидкостных компартментов уменьшились в среднем на 7-9% (рисунок 47).

С помощью непараметрического критерия Вилкоксона для парных измерений были обнаружены различия с уровнем значимости $p < 0,05$ между точками «фон» - «утро» и точками «утро» - «день» в каждом из изучаемых жидкостных компартментов.

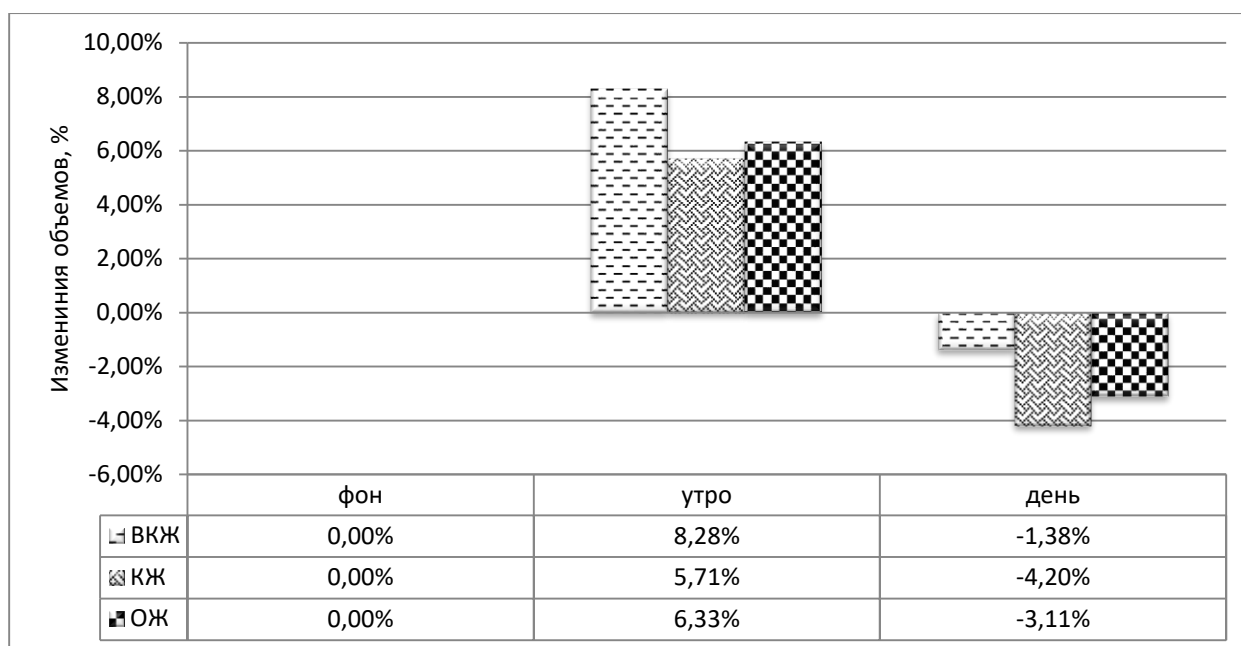


Рисунок 47. Изменения средних значений объемов жидкостей в области головы.

6.1.3 Изменения объемов жидкости в области верхних конечностей.

В течение первых 12 часов АНОГ («фон» - «утро») в области верхних конечностей статистических значимых изменений не произошло, что может свидетельствовать о незначительном перемещении жидкости в верхние конечности под действием АНОГ в первые 12 часов. Однако, введение диуретика в периоде «утро» - «день» повлекло за собой статистически значимое снижение жидкости в верхних конечностях ОЖ в среднем на 2,81% как за счет ВКЖ (в среднем на - 5,36%), так и за счет КЖ (в среднем на -2,87%) (рисунок 48).

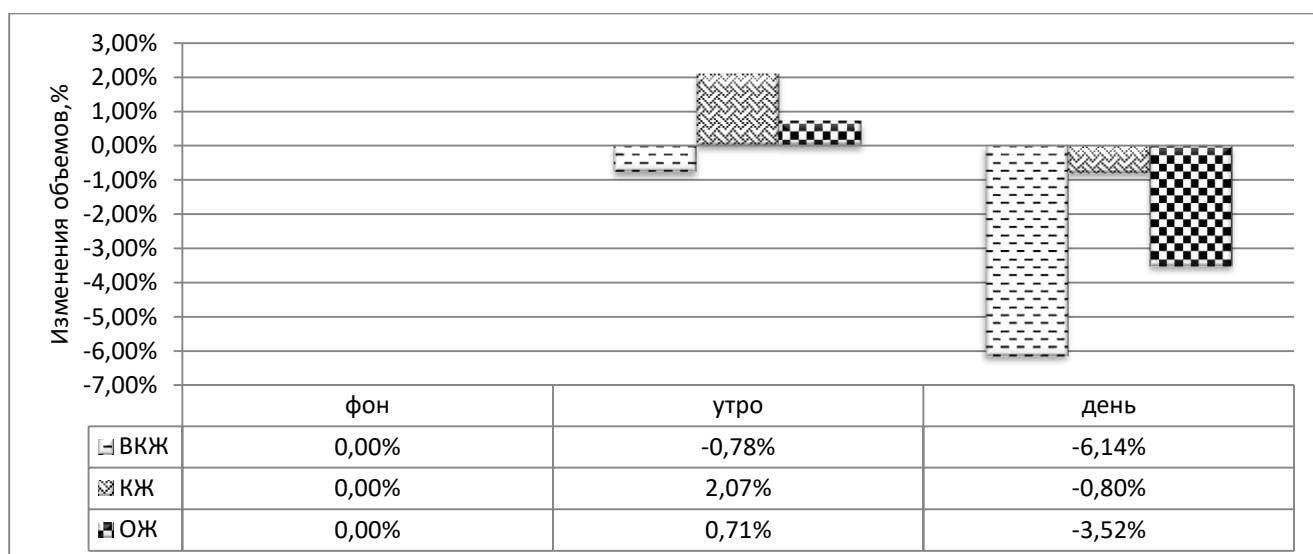


Рисунок 48. Изменения средних значений объемов жидкостей в области верхних конечностей.

С помощью непараметрического критерия Вилкоксона для парных

измерений было установлено отсутствие статистически значимых отличий между данными в точках «фон» - «утро» во всех жидкостных секторах. Между точками «утро» - «день» в каждом из изучаемых жидкостных компартментов с уровнем значимости $p < 0,05$ такие отличия обнаружены.

6.1.4 Изменения объемов жидкости в абдоминальной области.

Изменения в абдоминальной области носили не столь однозначный характер. В первые 12 часов АНОГ, характеризующие эффект гравитационного воздействия произошло уменьшение объема ОЖ в среднем на 6,18%, в основном за счет КЖ (в среднем на 9,03%), объем ВКЖ в среднем уменьшился на 3,03%. После введения диуретика объем ВКЖ продолжил значимо снижаться и упал еще на 5,87%, в то время как в других компартментах значимых изменений не отмечено (рисунок 49).

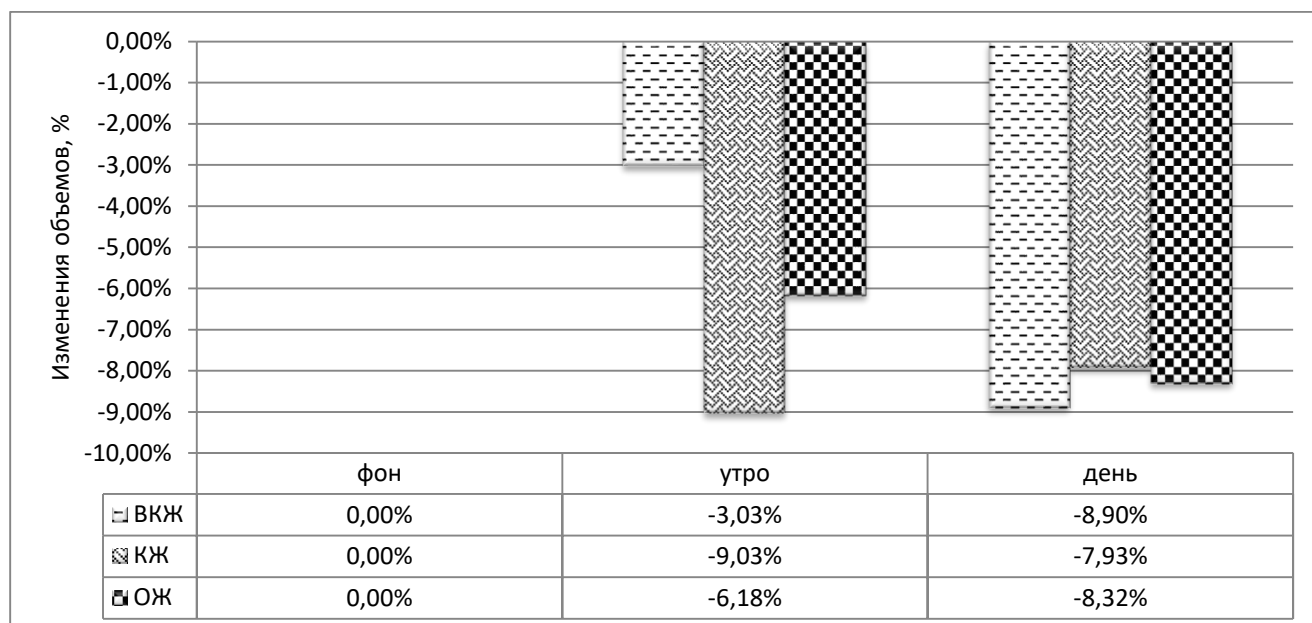


Рисунок 49. Изменения средних значений объемов жидкостей в абдоминальной области.

С помощью непараметрического критерия Вилкоксона для парных измерений были обнаружены различия с уровнем значимости $p < 0,05$ между точками «фон» - «утро» в каждом из изучаемых жидкостных компартментах; между точками «утро» - «день» статистически значимые различия обнаружены только в секторе ВКЖ.

6.1.5 Изменения объемов жидкости в области грудной клетки.

Изменения в грудной клетке имели схожий с абдоминальной областью характер. В период «фон-утро» в области грудной клетки произошло значимое

уменьшение объема ОЖ (в среднем на 4,03%) за счет сектора КЖ (в среднем на 6,35%), изменение объема ВКЖ было незначительным; после введения диуретика, наоборот значительно уменьшился объем ВКЖ на 6,79%, в то время как в секторе КЖ произошел минимальный прирост объема в среднем на 1,76% (рисунок 50).

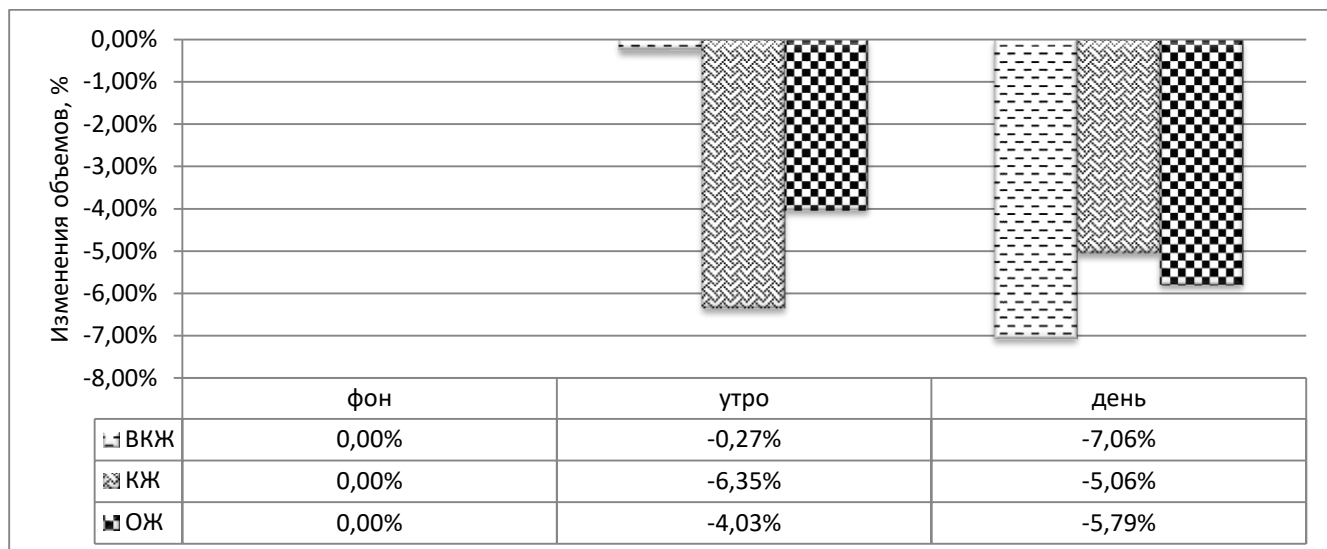


Рисунок 50. Изменения средних значений объемов жидкостей в области грудной клетки.

С помощью непараметрического критерия Вилкоксона для парных измерений были обнаружены различия с уровнем значимости $p < 0,05$ между точками «фон» - «утро» в секторах КЖ и ОЖ, в секторе ВКЖ статистически значимых изменений не обнаружено; между точками «утро» - «день» статистически значимые различия наоборот обнаружены только в секторе ВКЖ.

6.1.6 Изменения суммарных объемов жидкости.

При анализе изменений жидкости без учета регионов (суммарный объем), обращает на себя внимание, статистически значимое снижение всех жидкостных компартментов под влиянием АНОГ (рисунок 51). Однако, наибольший вклад в гравитационное снижение вносит КЖ. В то же время, после введения диуретика, основную роль в снижении объема ОЖ берет на себя ВКЖ. Изменения КЖ не достигают уровня статистической значимости.

С помощью непараметрического критерия Вилкоксона для парных измерений были обнаружены различия с уровнем значимости $p < 0,05$ между точками «фон» - «утро» во всех жидкостных секторах; между точками «утро» - «день» статистически значимые различия обнаружены в секторе ВКЖ и ОЖ.

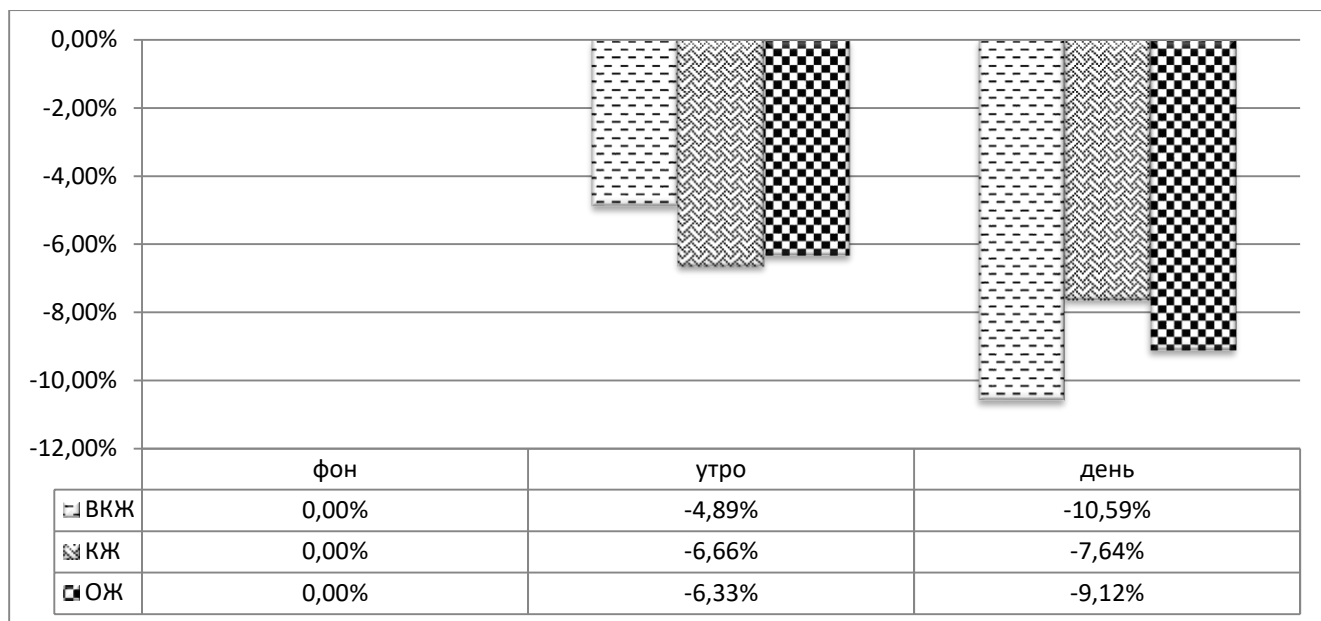


Рисунок 51. Изменения средних значений объемов жидкостей в сумме по регионам тела.

Таким образом, обобщая экспериментальные данные по диурезу и анализу водных секторов, можно отметить ожидаемое достоверное снижение общей жидкости в организме испытуемых под действием АНОГ. Эти изменения касаются практически всех регионов, кроме головы, в которой к 12 часу АНОГ достоверно увеличиваются все жидкостные компартменты: ОЖ на 6,33%, ВКЖ на 8,28%, КЖ на 5,71%. Это связано с перераспределением жидкости в краниальном направлении и, по всей видимости, носит транзиторный характер.

Также достоверно происходит снижение всех жидкостных компартментов после введения диуретического препарата.

Обращает на себя внимание тот факт, что в нижних конечностях и в голове динамика водных секторов одина, то есть в ответ на АНОГ снижаются и соответственно увеличиваются ОЖ, КЖ и ВКЖ.

В то же время, в абдоминальной области и грудной клетке прослеживается четкая закономерность: АНОГ, в основном, влияет на объем КЖ, который достоверно снижается после 12 часов антиортостатического положения и практически не оказывает влияния на объем ВКЖ. Объем ВКЖ достоверно снижается после введения диуретика, который в свою очередь практически не влияет на объем КЖ.

Рассмотрим влияние, которое оказала гипогидратация, как вызванная

эффектами модели микрогравитации, так и дополнительная, в системе микроциркуляции и периферическом газообмене.

6.2 Результаты оценки состояния микроциркуляторного русла по данным капилляроскопии.

Изменения системы микроциркуляции оценивали по результатам капилляроскопии сосудов ногтевого ложа верхней конечности.

Исследовали следующие параметры: размер периваскулярной зоны (ПЗ), диаметры артериального и венозного отделов капилляра, скорости в артериальном, венозном отделах и средняя скорость кровотока по капилляру.

Исследования проводили в тех же точках:

- Фон;
- Утро (12 часов АНОГ);
- День (17 часов АНОГ)
- Вечер (21 час АНОГ)

6.2.1 Размер периваскулярной зоны (ПЗ).

Показатель ширины периваскулярной зоны, в первую очередь, характеризует проницаемость капиллярной стенки и выход жидкой части плазмы в интерстициальное пространство. В нашем эксперименте минимально значимые изменения, почти достигающие уровня статистической значимости ($p=0,05$), происходят под действием АНОГ. За первые 12 часов происходит увеличение ПЗ с 83,1 мкм, до 87,8 мкм. В дальнейшем введение диуретика значимого влияния на размер ПЗ не оказывает. Через 3 часа размер ПЗ составляет 87,0 мкм (рисунок 52).

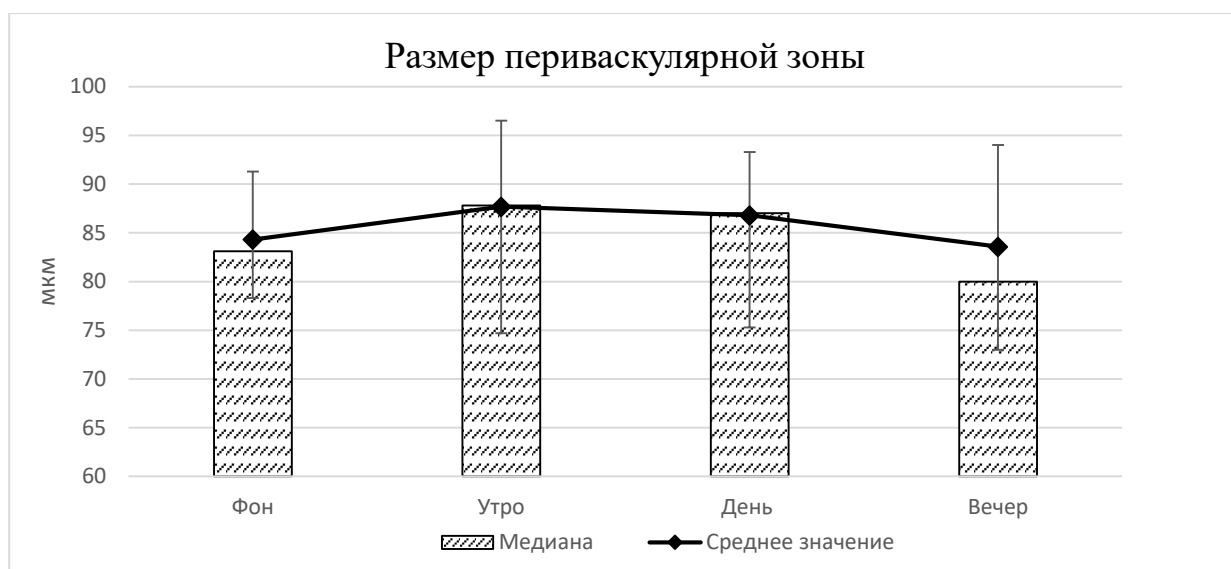


Рисунок 52. Динамика размера периваскулярной зоны (медиана, квантили 25 и 75%, среднее значение).

6.2.2 Диаметр артериального отдела (АО).

Артериальный отдел капилляра является наиболее активной в функциональном плане частью микроциркуляторного русла. Он первым реагирует на местные и системные факторы регуляции сосудистого тонуса. Вместе с тем, изменения диаметра артериального отдела, как правило, при физиологических воздействиях, минимальны. По нашим данным, диаметр артериального отдела практически не менялся по ходу эксперимента. Тем не менее, к 21 часу можно отметить достижение границы статистической значимости изменений. То есть на этом этапе влияние на него оказывает как АНОГ, так и дополнительная потеря жидкости. За 21 час диаметр АО уменьшается с 6,55 до 6,37 мкм при уровне значимости $p=0,05$ по критерию Вилкоксона (рисунок 53).

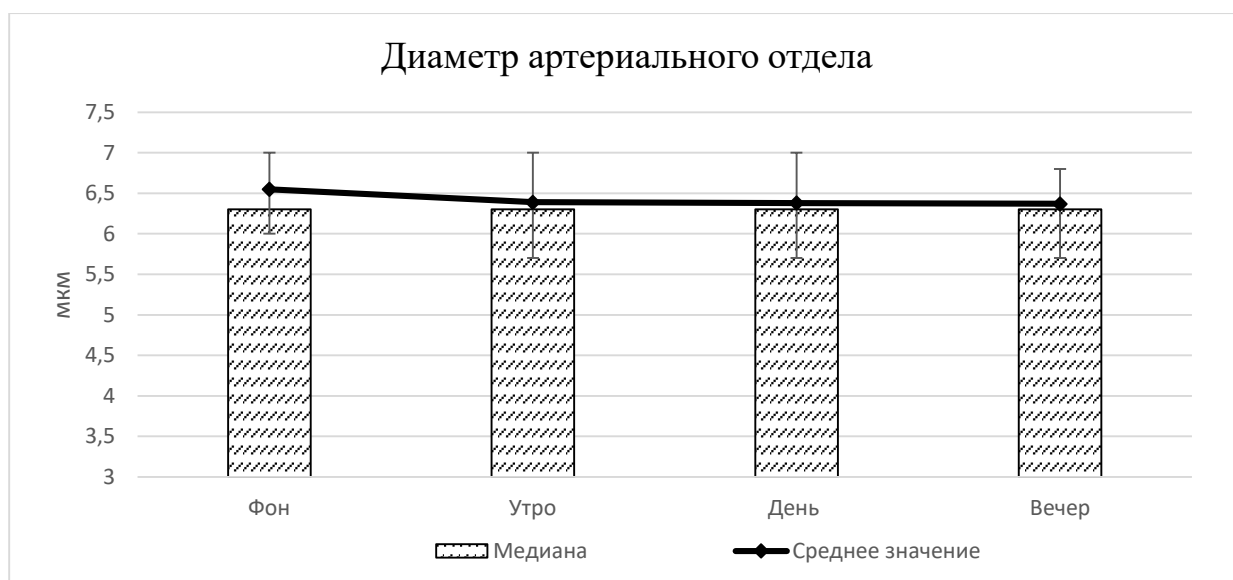


Рисунок 53. Динамика диаметра артериального отдела (медиана, квантили 25 и 75%, среднее значение).

6.2.3 Диаметр венозного отдела (ВО).

Поскольку венозный отдел капилляров можно, с определенными допущениями, отнести к емкостной части сосудистого русла, его изменения в первую очередь характеризуют динамику ОЦК. По нашим данным, через 12 часов АНОГ имеется некоторая тенденция к уменьшению диаметра ВО с 8,66 (8,28 – 9,04) мкм до 8,42 (7,92 – 8,91) мкм, которая приближается к уровню статистической значимости после введения диуретика 8,27 (7,87 – 8,68) мкм ($p=0,05$) и достигает его через 21 час АНОГ – 8,23 (7,66 – 8,81) ($p<0,05$) по критерию Вилкоксона (рисунок 54).

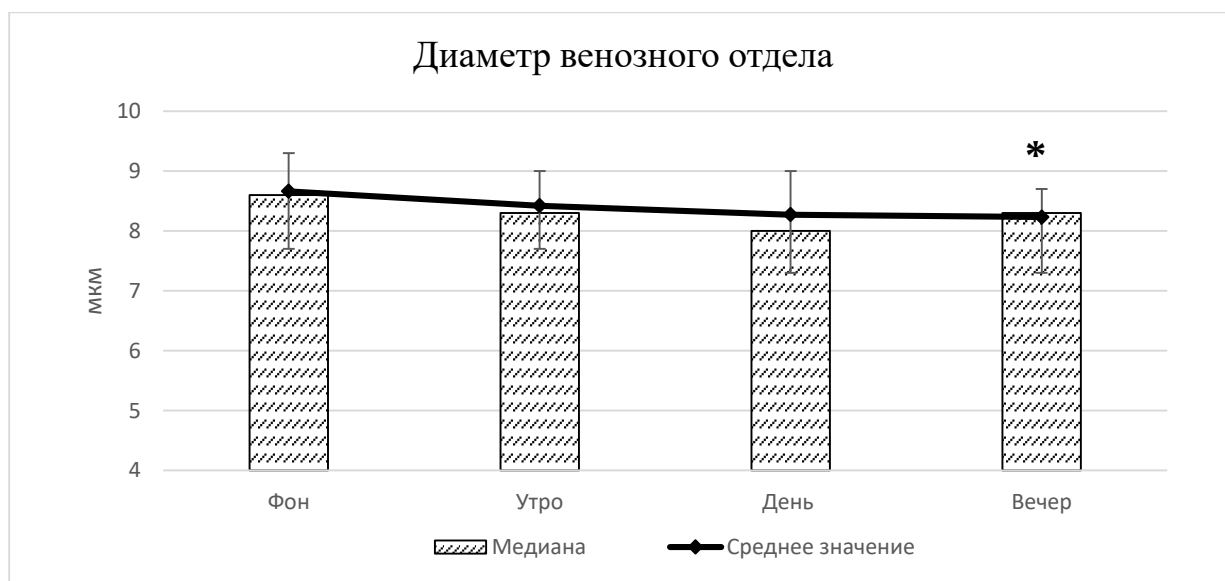


Рисунок 54. Динамика диаметра венозного отдела (медиана, квантили 25 и 75%, среднее

значение).

* - показатель статистически значимо отличается от фона ($p < 0,05$).

Статистически значимых изменений скорости кровотока в капиллярном русле на протяжении данного эксперимента не отмечено. В качестве примера на рисунке 55 приведена динамика средней скорости в капилляре в течение 21 часа АНОГ.

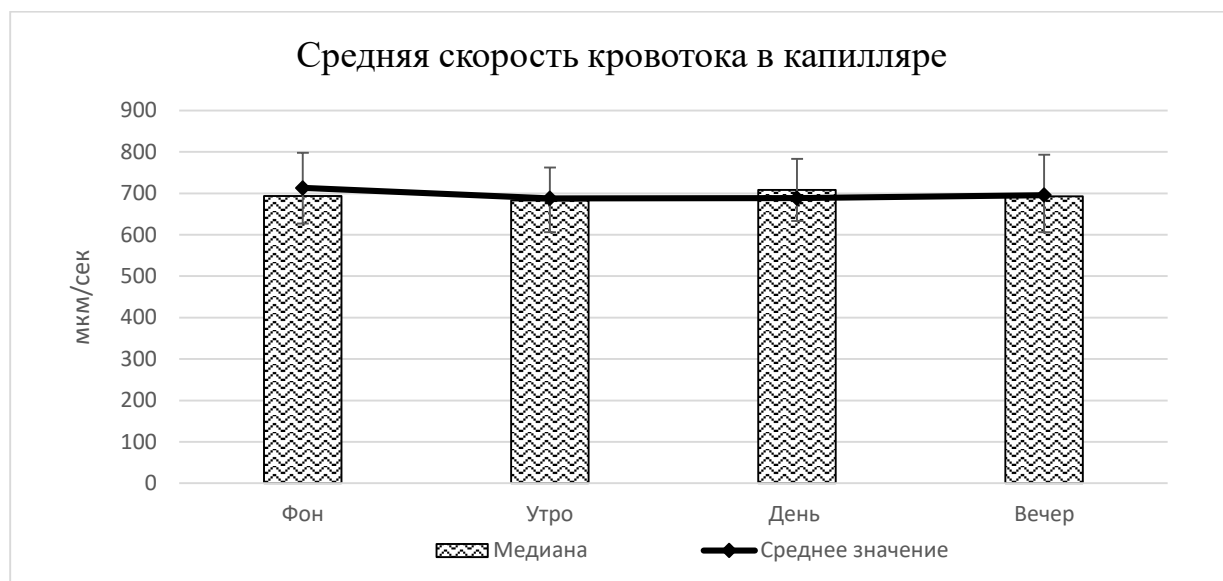


Рисунок 55. Динамика средней скорости кровотока в капилляре (медиана, квантили 25 и 75%, среднее значение).

Анализируя изменения в микроциркуляторном русле, мы видим увеличение периваскулярной зоны через 12 часов после начала АНОГ. Это говорит об увеличении проницаемости капиллярной стенки под влиянием факторов эксперимента. Эта динамика сохраняется до 17 часа АНОГ. Можно также отметить тенденцию к снижению размеров ПЗ после введения диуретика, хотя эти изменения не достигают требуемого уровня значимости.

Колебания диаметра артериального отдела незначительны по своей величине, но уже через 12 часов АНОГ у испытуемых наблюдается некоторая вазоконстрикция, которая к 21 часу достигает уровня достоверности. Несмотря на относительно небольшую величину изменений, их однонаправленность и минимальный разброс указывают на то, что антиортостатическое положение вызывает констрикцию артериальных отделов капилляров.

За 12 часов АНОГ венозный отдел также несколько сужается, а к 21 часу эти изменения становятся достоверными.

Скорость кровотока в системе микроциркуляции значимо не изменяется.

Анализируя изменения в системе микроциркуляции мы должны иметь ввиду, что микроциркуляторное русло также, как и магистральный периферический кровоток зависит от гравитационного перераспределения жидкости. Если сравнить эти данные с показателями водного баланса по регионам, то можно отметить минимальные изменения, по сравнению с другими регионами в верхних конечностях. Очевидно, что это сказалось и на незначительной динамике микроциркуляторных параметров. Вероятно, микроциркуляторные изменения в области головы или нижних конечностей были бы более показательны.

6.3 Результаты оценки состояния периферического газообмена по уровню кислорода и углекислого газа в капиллярной и венозной крови в сосудах верхних и нижних конечностей.

Периферический газообмен мы оценивали в капиллярах и венах верхних и нижних конечностей. Оценку газообмена производили по показателям парциального напряжения кислорода и углекислого газа в капиллярной и венозной крови. Экспериментальные данные набирали в 2-х идентичных по дизайну исследования сериях эксперимента (1 и 2 серия). При анализе полученного материала статистическую обработку проводили отдельно по каждой серии.

Сразу можно отметить, что также как параметры водного баланса и микроциркуляторные изменения в верхних конечностях они были выражены меньше, чем в нижних конечностях, а изменения парциального давления углекислого газа носили более выраженный характер, чем напряжение кислорода.

Абсолютные значения показателей приведены в Приложении 1.

При анализе мы оценивали отдельно влияние АНОГ и влияние дополнительной потери жидкости, моделируемой введением диуретика на фоне АНОГ.

12-ти часовая АНОГ отразилась на показателях газообмена следующим образом:

6.3.1 Парциальное напряжение кислорода в верхних и нижних конечностях (влияние АНОГ).

АНОГ не изменяет статистически значимо парциальное напряжение кислорода, как в капиллярах, так и в венах верхних и нижних конечностей (рисунок 56). Мы видим некоторое повышение напряжения кислорода в венах верхних конечностей после 12-ти часов АНОГ, однако, из-за большого разброса индивидуальных показателей в фоновой точке, это повышение не достигает уровня статистической значимости.

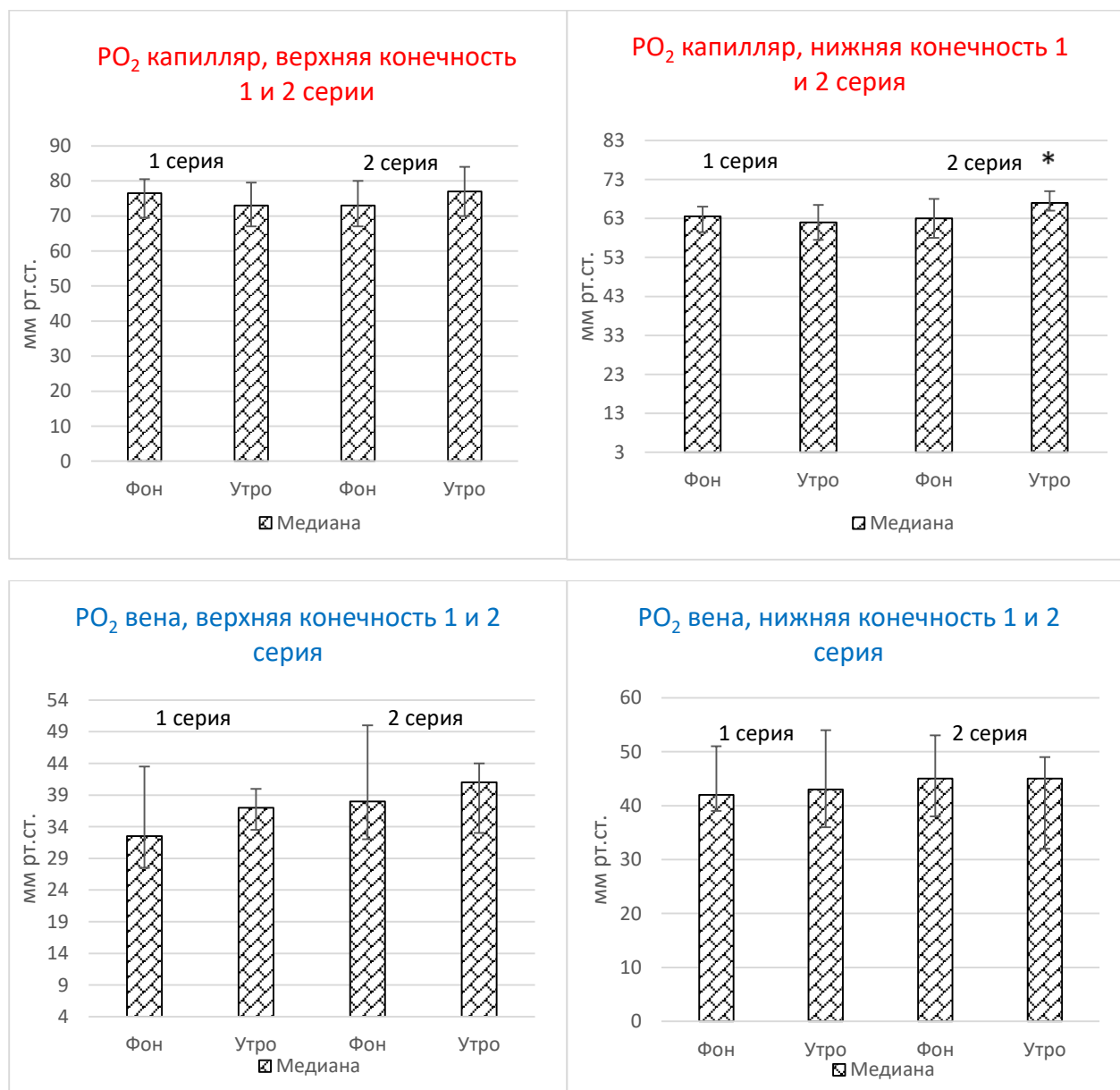


Рисунок 56. Парциальное напряжение кислорода в капиллярной и венозной крови верхней и нижней конечности после 12-ти часового антиортостатического воздействия. * - показатель статистически значимо отличается от фона ($p < 0,05$).

Тем не менее, это повышение может свидетельствовать о некотором шунтировании кровотока и снижении газообмена в верхней конечности. Возможно это связано с некоторым снижением ОЦК в первые 12 часов АНОГ.

6.3.2 Парциальное напряжение углекислого газа в верхних и нижних конечностях (влияние АНОГ).

В отличие от кислорода напряжение CO_2 в периферических сосудах значительно меняется под действием антиортостатического положения (рисунок 57).

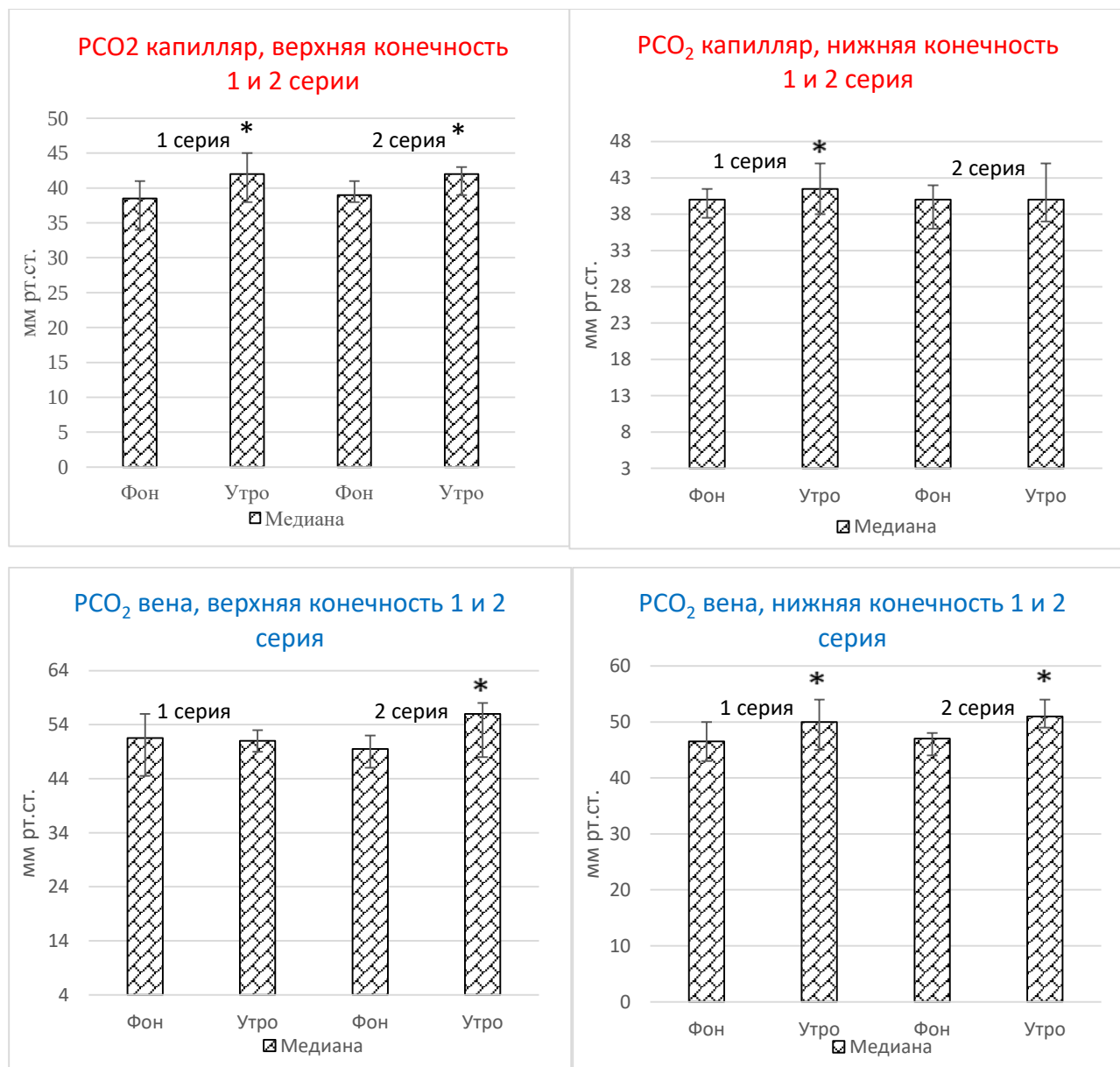


Рисунок 57. Парциальное напряжение углекислого газа в капиллярной и венозной крови верхней и нижней конечности после 12-ти часового антиортостатического воздействия. * - показатель статистически значимо отличается от фона ($p < 0,05$).

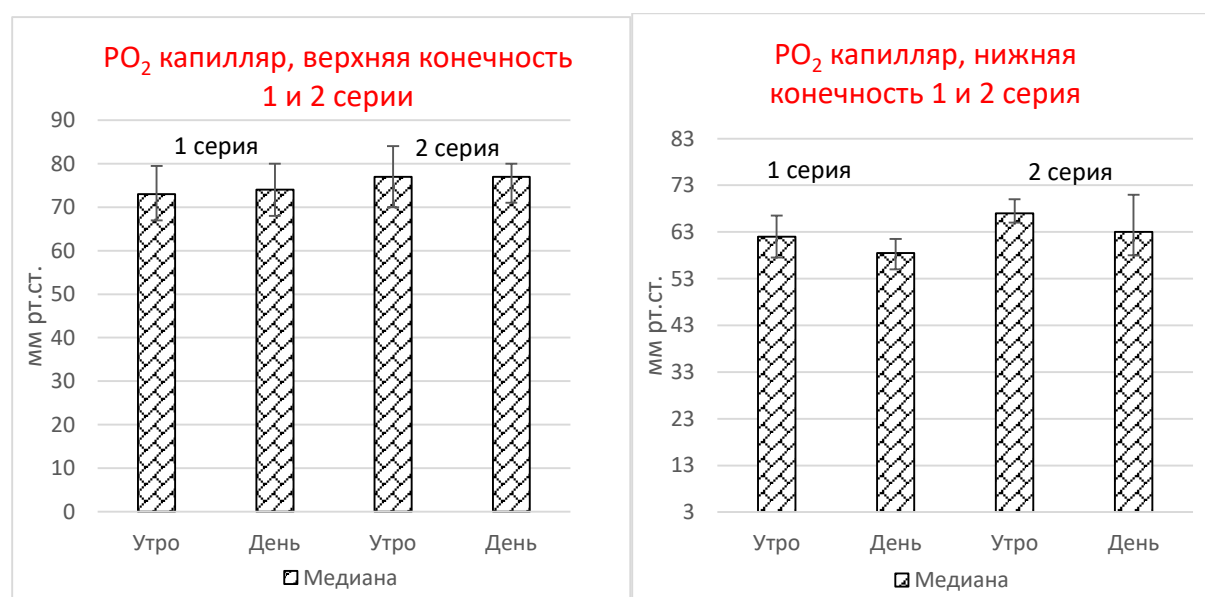
Уже через 12 часов АНОГ напряжение углекислого газа статистически

значимо нарастает в капиллярах и венах верхних и нижних конечностей. Причиной роста парциального напряжения CO_2 как в капиллярной, так и в венозной крови вероятно вызваны снижением чувствительности дыхательного центра в следствие перераспределения жидкости в краниальном направлении. Данные об изменении чувствительности дыхательного центра как в горизонтальном положении, так и в условиях микрогравитации были получены в ходе космического эксперимента «ДАН» [180]. Фоновые данные регистрировали вечером, а утренние показатели регистрировали в 8.00, после ночного сна. Изменения паттернов дыхания в ночное время со снижением частоты дыхания, на фоне снижения чувствительности дыхательного центра, приводят к снижению выведения CO_2 в ночное время и, как следствие, некоторому повышению его напряжения в крови в утренние часы.

Введение диуретика, приводило к потерям жидкости в среднем в объеме около 10% ОЦК (~ 500 мл). На этом фоне происходили следующие изменения в газовом составе крови:

6.3.3 Парциальное напряжение кислорода в верхних и нижних конечностях (влияние диуретика).

В отличие от «чистого» АНОГ, дополнительная потеря жидкости приводит к статистически значимым изменениям напряжения кислорода в венозной крови верхних конечностей (рисунок 58).



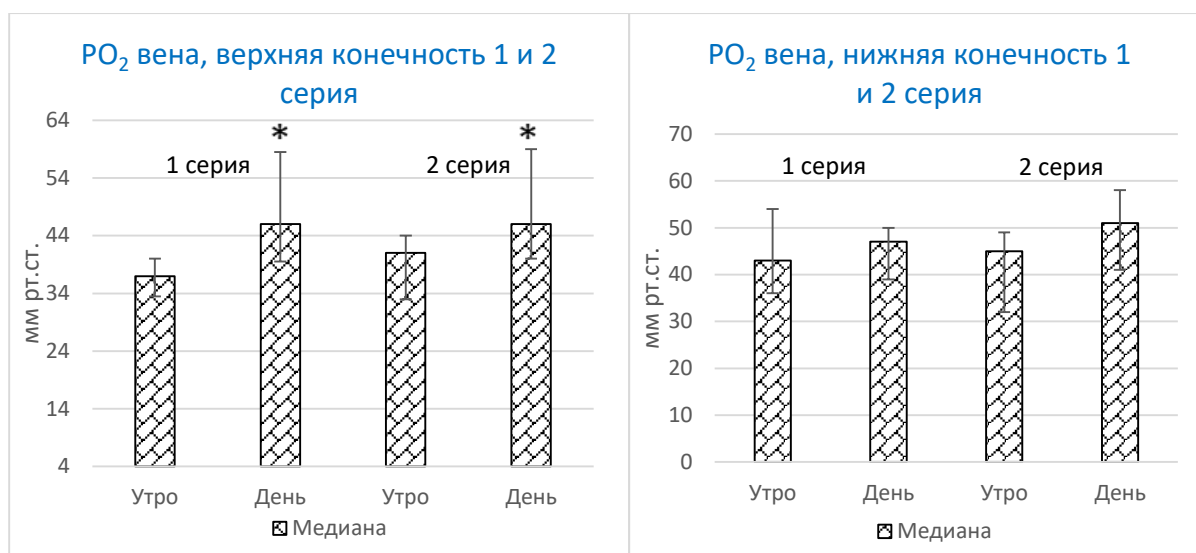


Рисунок 58. Парциальное напряжение кислорода в капиллярной и венозной крови верхней и нижней конечности после введения диуретика на фоне антиортостатического воздействия. * - показатель статистически значимо отличается от точки «утро» ($p < 0,05$).

Напряжение кислорода повышается, что обусловлено артерио-венозным шунтированием крови со снижением газообмена в периферических тканях на фоне уменьшения ОЦК и снижения объема жидкости в верхних конечностях по данным анализа водных секторов на ~ 6%. Такую же закономерность мы можем отметить в венозной крови нижних конечностей, однако, там она не достигает уровня статистической значимости. Вероятно это обусловлено тем, что после 12-ти часов АНОГ объем внеклеточной жидкости (к которой относится и кровь) снижается на 14,5% и относительно небольшие дополнительные потери ОЦК после введения диуретика не дают такого выраженного эффекта на кровообращение в нижних конечностях.

6.3.4 Парциальное напряжение углекислого газа в верхних и нижних конечностях (влияние диуретика).

Парциальное напряжение углекислого газа, как и в ситуации с АНОГ демонстрирует более выраженные изменения, как в верхних, так и в нижних конечностях по сравнению с кислородом (рисунок 59).

После введения диуретика напряжение CO_2 значимо снижается в венах рук и ног. Снижение парциального давления углекислого газа в венозной крови подтверждает увеличение объема артерио-венозного шунтирования периферического кровотока со снижением уровня газообмена в периферических

тканях. В большей степени это выражено в верхних конечностях, по тем же причинам, что и более выраженный рост pO_2 в венах рук.

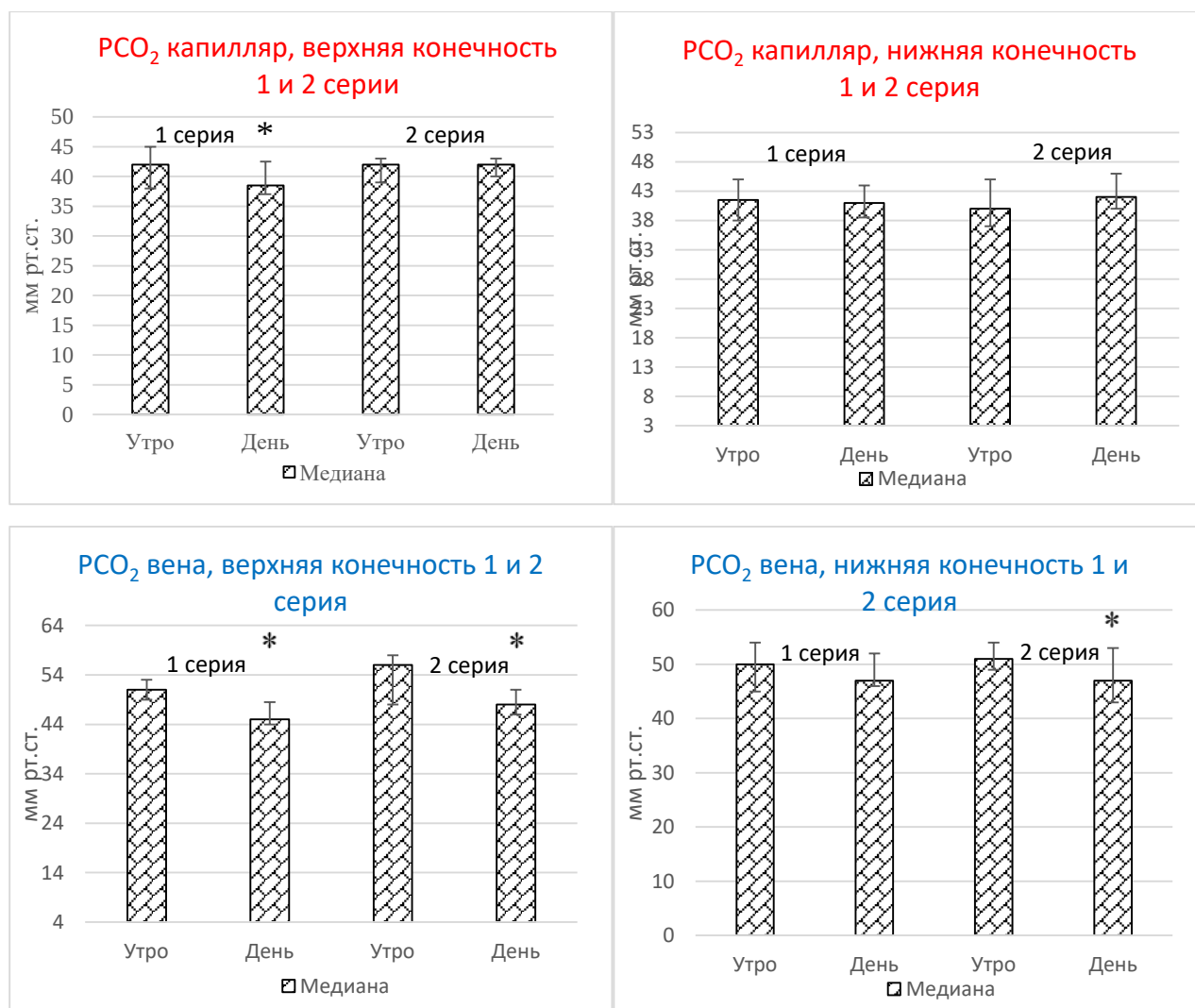


Рисунок 59. Парциальное напряжение углекислого газа в капиллярной и венозной крови верхней и нижней конечности после введения диуретика на фоне антиортостатического воздействия. * - показатель статистически значимо отличается от точки «утро» ($p < 0,05$).

Обобщая данные по влиянию дополнительной потери жидкости на фоне моделирования эффектов микрогравитации можно отметить следующие выявленные закономерности.

АНОГ ожидаемо приводит к снижению общего содержания жидкости в организме, это подтверждает многократно полученные ранее результаты. Снижение общей жидкости происходит в нижних конечностях, грудной и брюшной полости. Отсутствует это снижение только в верхних конечностях и голове. В голове отмечается даже некоторое увеличение общей жидкости за счет гравитационного перераспределения.

Однако, обращает на себя внимание тот факт, что потери жидкости в результате АНОГ происходят за счет внутриклеточной жидкости, особенно в грудной и брюшной полости. В то же время, острые патологические процессы, такие как крово- или плазмопотеря в результате травмы или ожога, острые отравления, лихорадка и некоторые другие, в первую очередь будут приводить к потере внеклеточной жидкости и снижению ОЦК. При оценке возможных потерь жидкости для расчета корректирующей терапии медицинским специалистам необходимо будет учитывать дополнительные/фоновые внутриклеточные потери жидкости связанные с воздействием микрогравитации.

Изменений в системе микроциркуляции в нашем исследовании выявить не удалось. За исключением некоторого статистически значимого снижения диаметра венозного отдела капиллярного русла. Этот факт дополнительно подтверждает снижение ОЦК после введения диуретика. Тем не менее, к отсутствию изменений в микрогемодинамике надо подходить осторожно. Вероятно это связано с особенностями методики регистрации микроциркуляторных показателей, а именно с регистрацией этих показателей на верхней конечности. Как уже было отмечено, по результатам динамики водных секторов, перераспределение жидкости практически отсутствовало в руке после 12 часов АНОГ и только после введения диуретика было получено незначительное, хотя и статистически значимое, снижение объема внеклеточной жидкости.

Результатом 12-ти часовой АНОГ стало статистически значимое увеличение напряжения углекислого газа в периферической крови (как капиллярной, так и венозной). На наш взгляд, это связано со снижением чувствительности дыхательного центра вызванной перераспределением жидкости в краниальном направлении. На фоне дополнительных потерь жидкости мы видим уменьшение периферического газообмена, выражающегося в значимом увеличении напряжения кислорода в венозной крови и снижения углекислого газа, что является признаком увеличения доли артерио-венозного шунтирования кровотока. Увеличение шунтирующего кровотока, связано со снижением ОЦК и выключением части капилляров из активного газообмена.

В нашем случае, снижение ОЦК составляло около 10% и не приводило к массивной централизации кровотока. При больших значениях крово/плазмопотери при возникновении реальных клинических ситуаций у космонавтов, этот механизм нельзя не учитывать.

ГЛАВА 7. ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЭФФЕКТОВ МИКРОГРАВИТАЦИИ.

Одними из наиболее грозных патологических процессов в сердечно-сосудистой системе являются острый коронарный синдром или инфаркт миокарда. Согласно расчётам американских исследователей, вероятность острого коронарного события составляет 0,43 случая на 100 человеко/лет [181], то есть чуть менее 1 случая на 200 человек, проработавших в космосе 1 год. Казалось бы, риск очень мал, учитывая, что в настоящее время в космос при продолжительности полета около полугода летают от 10 до 20 человек в год. Однако надо учесть 3 обстоятельства: первое – частота полетов растет и количество участников космических полетов увеличивается, второе – снижаются медицинские требования к участникам космических полетов и, наконец, третье – риск для жизни при возникновении острого коронарного синдрома/инфаркта миокарда исключительно велик. Исходя из этого, инфаркт миокарда был выбран в качестве одного из патологических состояний в нашем исследовании.

В качестве объекта исследований были выбраны крысы. На первом этапе было необходимо оценить особенности функционирования сердечной мышцы крысы в условиях моделированной невесомости.

7.1 Исследование особенностей функционирования сердца крысы в условиях АОВ.

В эксперименте задействовали 53 крысы-самца линии Вистар массой около 265 г, возрастом 3-4 мес. Лабораторные животные были разделены на 2 группы: контрольная – интактная группа крыс ($n=27$) и группа АОВ – группа крыс, подвергшаяся моделированию действия микрогравитации в течение 2 недель с последующей реадаптацией к нормальным виварным условиям содержания и без нее ($n=26$).

Для моделирования действия микрогравитации применяли модель антиортостатического вивешивания (АОВ). Животных содержали в условиях вивария с 12-ти часовой сменой светового режима, ежедневной уборкой клеток,

стандартным питанием и водой по потребности.

Массу тела крыс измеряли несколько раз: в день введения животного в эксперимент, раз в неделю в течение эксперимента и в день выведения из эксперимента. За 2 часа до взвешивания крыс лишали корма.

Для выявления изменений электрической и функциональной активности сердца использовали методы ЭКГ и Эхо-КГ. ЭКГ регистрировали с помощью компьютерного электрокардиографа «Полиспектр-8/В» до и после воздействия. Игольчатые электроды вводили подкожно в дистальные участки 4-х конечностей. Перед проведением ЭКГ крыс наркотизировали. ЭКГ непрерывно регистрировали в 1, 2, 3 стандартных и одном усиленном (avI) отведениях в течение 2-х минут. Наибольшее внимание уделяли изменениям во II стандартном отведении. Анализировали записи ЭКГ, не содержащие эктопических сокращений, строили ритмограммы и спектрограммы с помощью программ «Нейрософт» (Россия). Программное обеспечение прибора позволяет по окончании регистрации получать информацию о ЧСС, длительности R-R интервалов, усредненных показателях сердечного комплекса (PQRST - комплекса). Оценивали проводимость миокарда, морфологию и динамику зубцов, интервалов и сегментов ЭКГ, рассчитывали показатели вариабельности сердечного ритма (BCP).

Эхокардиографию (Эхо-КГ) проводили перед выведением крыс из эксперимента с использованием в качестве наркоза кетамина в дозе 100 мг/кг. Измерения производили в одномерном М-модальном и двумерном В-модальном режиме по методу Teichholz при положении датчика эхокардиографа в парастеральной позиции по длинной оси. В М-модальном режиме оценивали конечный систолический (КСР) и конечный диастолический (КДР) размеры левого желудочка сердца, на основании чего рассчитывали такие показатели насосной функции сердца, как фракция выброса (ФВ), фракция укорочения (ФУ). Измерения проводили, как минимум, по пяти последовательным сердечным циклам. В работе использовали цифровой ультразвуковой эхокардиограф DP6600 с электронным микроконвексным датчиком 65C15EA (6.5/8.0 мГц).

Для контроля воспалительной реакции при моделировании эффектов

микрогравитации у крыс определяли общее количество лейкоцитов и составляли лейкоцитарную формулу крови.

Для исследования изменений в субфракционном составе сыворотки крови использовали метод лазерной корреляционной спектроскопии (ЛКС). Забор крови происходил из боковой хвостовой вены и при декапитации.

Животных выводили из эксперимента путем декапитации после предварительной наркотизации. Сердца извлекали, отмывали в физиологическом растворе и взвешивали для расчета массового коэффициента сердца. Далее сердце помещали в 10% раствор нейтрального формалина (ООО «Гем», Россия) для дальнейшего проведения гистологического исследования.

Динамика массы тела крыс.

Контрольная группа плавно набирала массу тела в течение всего эксперимента. В эксперименте было зафиксировано снижение прироста массы тела крыс после 14-суточного вывешивания. Однако, важно отметить, что в группе АОВ снижение прироста массы тела после окончания вывешивания полностью восстанавливается через 2 недели реадaptации, и не отличается от значений в контрольной группе.

Анализ ЭКГ контрольных и АОВ-животных в течение 4 недель эксперимента

После АОВ ЭКГ регистрировали сразу после снятия животных со станда, через 1 и 2 недели реадaptации. В опытной группе выявлено некоторое снижение амплитуды зубца R (таблица 19). При визуальном анализе ЭКГ-записи была выделена особенность, заключающаяся в расщеплении зубца R в результате снижения ниже изолинии его второй половины (рисунок 60). Искривление зубца R фиксировали в 28%, экстрасистолию – в 4 % случаев.

Таблица 19. Анализ ЭКГ крыс после антиортостатического вывешивания

		<i>Амплитуда, мВ</i>									
			I отведение			II отведение			III отведение		
группа	точка измерения	кол-во измерений	P	R	STj	P	R	ST	P	R	ST
контроль	1-6 нед	47	0,01 [0,01;0,01]	0,13 [0,10;0,18]	-0,04 [-0,06;-0,02]	0,03 [0,02;0,03]	0,22 [0,18;0,25]	0,04 [0;0,07]	0,01 [0,01;0,02]	0,12 [0,08;0,16]	0,05 [0,02;0,08]
АОВ	исходно	20	0,01 [0,01;0,01]	0,13 [0,09;0,22]	-0,03 [-0,04;-0,025]	0,025 [0,02;0,03]	0,235 [0,215;0,28]	0,06 [0,04;0,08]	0,01 [0,01;0,02]	0,12 [0,04;0,18]	0,075 [0,04;0,12]
	АОВ	24	0 [0;0,01]	0,1 [0,07;0,17]	-0,03 [-0,055;0]	0,02 [0,01;0,03]	0,185 □ [0,17;0,23]	0,005 *□ [-0,04;0,035]	0,01 [0,01;0,02]	0,115 [0,075;0,15]	0,015 *□ [-0,02;0,04]
	АОВ +2 нед	5	0 [0;0,01]	0,22 [0,08;0,23]	-0,06 [-0,06;-0,03]	0,03 [0,02;0,03]	0,25 [0,21;0,25]	0,03 [0,02;0,05]	0,03 [0,01;0,03]	0,11 [0,07;0,02]	0,05 [0,05;0,06]
<i>Длительность, мс</i>											
		ЧСС, уд./мин.	I отв. R	II отв. R	III отв. R	P	PR(PQ)	QRS	QT	QTc	RRNN
контроль	1-6 нед	504,0 [482;520]	22,0 [21;24]	22,0 [21;24]	20,0 [18;21]	28,0 [28;30]	45,0 [43;46,5]	30,0 [28;30]	70,0 [66;75]	203,0 [191;213]	118,5 [115;124]
АОВ	исходно	509,5 [493;536,5]	22,0 [20,5;24]	22,0 [21;24]	20,0 [18;21]	28,5 [28;30]	44,5 [43;46,5]	29,5 [28,5;30]	66,0 [64,5;70]	195,0 [189,5;203,5]	118,0 [112;121,5]
	АОВ	517,0 [478;525]	21,5 [19,5;22]	22,0 [20;22]	20,0 [19,5;22]	29,0 [28;30]	42,0 * [40;45,5]	28,0 [28;30]	70,0 [67,5;78]	206,0 □ [199;222,5]	116,0 [114,5;125,5]
	АОВ +2 нед	524,0 [437;541]	22,0 [16;22]	22,0 [21;22]	16,0 [16;21]	28,0 [28;29]	42,0 [42;50]	30,0 [28;30]	68,0 [62;84]	201,0 [168;221]	115,0 [111;137]

В таблице представлены медианы с квартилями [Q25;Q75]. Где * - сравнение с контролем, □ - сравнение с АОВ исходно, (p<0,05).

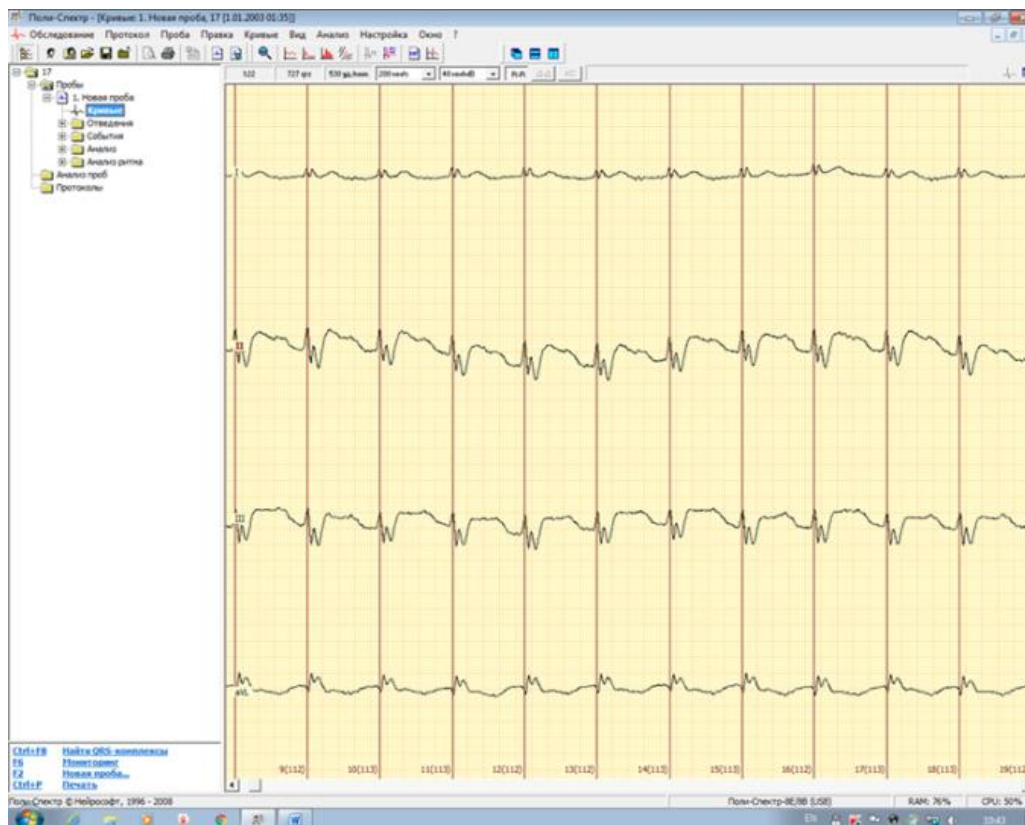


Рисунок 60. ЭКГ крысы после АОВ с характерными изменениями зубца R.

Достоверных изменений ЧСС и длительности RR-интервалов не было обнаружено. Контурный анализ ЭКГ крыс выявил, что после 2-х недельного антиортостического вывешивания статистически значимо укорачивается интервал PR (PQ) и удлиняется интервал QT (таблица 19). Интервал PR(PQ) отражает переход разряда от предсердий через атриовентрикулярный узел к желудочкам. Уменьшение продолжительности данного интервала свидетельствует об ускорении атриовентрикулярной проводимости, такое изменение регистрируют при гипертиреозе, артериальной гипертензии, ревматической лихорадке, инфаркте миокарда, хронической ишемической болезни сердца, гипервозбудимости сердца и т.д. Укороченный интервал PQ может быть предшественником наджелудочковых пароксизмальных аритмий [182].

Интервал QT соответствует полному циклу деполяризации и реполяризации желудочков, отражает электрическую систолу желудочков [183]. В норме, продолжительность интервала QT зависит от текущей частоты сердечного ритма,

поэтому с диагностической целью чаще всего используют абсолютный показатель – скорректированный интервал QT (QTc), который рассчитывают по формуле Базетта, где введена поправка на текущую частоту сердечного ритма [184].

Увеличение продолжительности данного интервала в опытных группах свидетельствует о замедленной реполяризации желудочков, возможно, о наличии ишемии. Такое изменение является электрофизиологическим субстратом появления триггерной активности вследствие ранних следовых деполяризаций и возникновения механизма re-entry, и, как следствие, появления желудочковых аритмий.

Кроме того, после АОВ наблюдали снижение амплитуды зубца R во II отведении по сравнению с исходными значениями. Также было обнаружено снижение сегмента ST в отведениях II и III по сравнению с контрольными и исходными значениями. Хотя количественно такое изменение не носит патологический характер, оно значительно отличалось от контроля, что требует упоминания, как о возможном проявлении АОВ (таблица 19).

В группе АОВ+2 недели достоверных отличий по показателям ЭКГ в сравнении с группой Контроль и группой АОВ обнаружено не было. Достоверных изменений ВСП в разные сроки после АОВ не наблюдали.

Таким образом, выявленные нарушения проводимости миокарда, возникающие в течение 2 недель при моделировании микрогравитации, имеют обратимый характер.

Анализ эхокардиографических данных

Метод эхокардиографической оценки позволяет адекватно оценить структурно-функциональные изменения миокарда крыс, вызванные моделированием действия микрогравитации. Изменения функции, структуры и геометрии левого желудочка могут повлечь за собой развитие сердечной недостаточности. Снижение фракции укорочения, фракции выброса, а также увеличение конечного систолического размера левого желудочка свидетельствуют об уменьшении сократительной функции сердца, формировании систолической дисфункции миокарда.

Особенности ремоделирования сердца в космическом полете и при моделировании действия микрогравитации изучены недостаточно. Вместе с тем, от сохранности насосной функции сердца во многом зависит успешность процессов адаптации сердечно-сосудистой системы после возвращения космонавтов в условия земной гравитации. В данной работе анализировали изменения миокарда левого желудочка, оценивая фракции выброса и укорочения (ФВ и ФУ), конечные систолический и диастолические размеры левого желудочка (КСР, КДР) (рисунок 61).

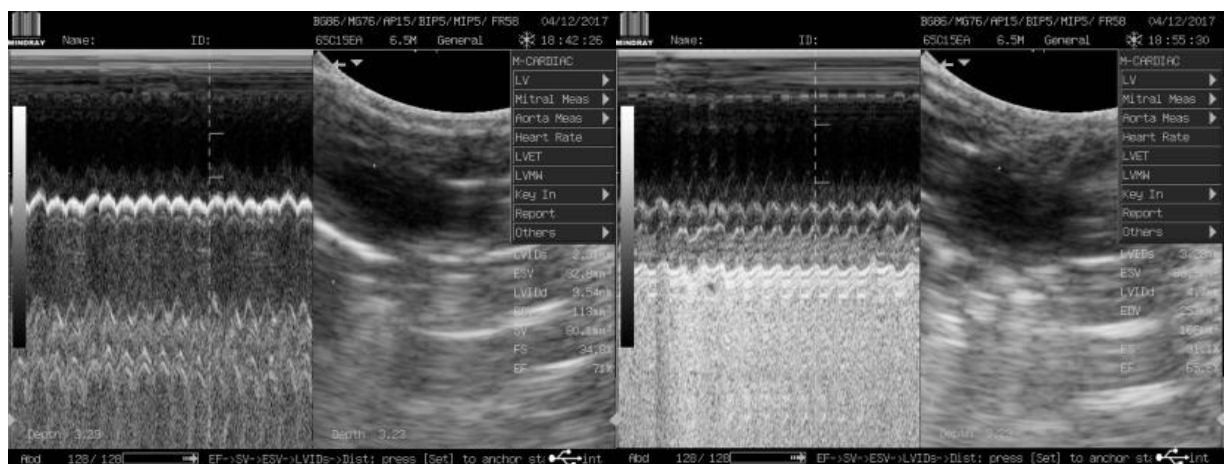


Рисунок 61. Эхокардиографическое исследование крыс после двухнедельного моделирования микрогравитации.

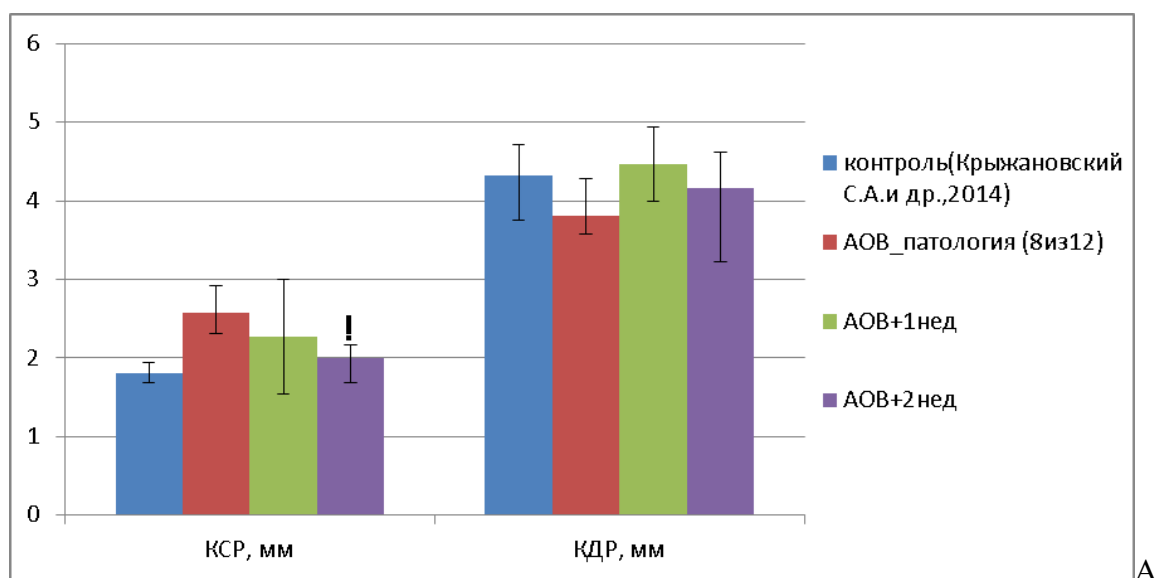
Для того чтобы проанализировать изменения функции сердца после действия микрогравитации в качестве контрольных значений взяты величины из статьи Крыжановского С.А. с соавторами [185]. Эхокардиографическое исследование левого желудочка (ЛЖ) было проведено 12 крысам сразу после окончания АОВ. В 8 случаях наблюдали снижение ФВ и увеличение КСР, свидетельствующие о снижении насосной функции сердца (СНФ). В остальных 4 случаях измеряемые показатели не отличались от нормальных значений (таблица 20).

Таблица 20. Эхокардиографическое исследование функции ЛЖ крыс после АОВ.

Крыса	Фракция выброса и КСР	Насосная функция
5	снижение ФВ и увеличение КСР	СНФ
7	норма	норма
14	снижение ФВ и увеличение КСР	СНФ

22	норма	норма
28	снижение ФВ и увеличение КСР	СНФ
29	снижение ФВ и увеличение КСР	
33	снижение ФВ и увеличение КСР	
37	норма	норма
39	норма	норма
48	снижение ФВ и увеличение КСР	СНФ
50	снижение ФВ и увеличение КСР	
58	снижение ФВ и увеличение КСР	
АОВ+1 неделя		
28	норма	Изменения геометрии сердца не выходят за рамки физиологической нормы
48	незначительная дилатация полости ЛЖ; снижение ФВ и незначительный гипокинез задней стенки ЛЖ	
АОВ+2 недели		
14	норма	Изменения геометрии сердца не выходят за рамки физиологической нормы
29	норма	
33	незначительная дилатация полости ЛЖ	

Для дальнейшего и более детального изучения действия АОВ на функционирование миокарда в условиях моделируемой микрогравитации были построены гистограммы, в которые вошли данные животных с подтвержденными изменениями насосной функции. После моделирования действия микрогравитации происходит увеличение конечного систолического размера ЛЖ (рисунок 62 А), снижение фракции укорочения и фракции выброса (рисунок 62 Б).



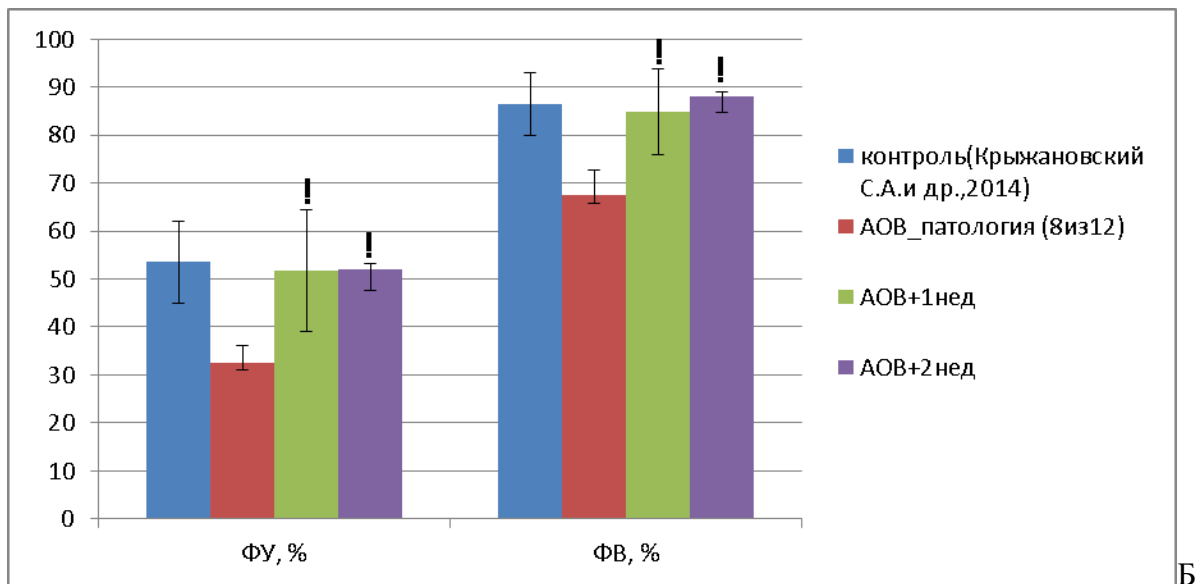


Рисунок 62. ЭхоКГ крыс в разные сроки после антиортостатического вывешивания. А – изменения конечного систолического и диастолического размеров ЛЖ, Б – изменения фракций укорочения и выброса, где ! – отличие от группы АОВ_патология, $p < 0,05$, критерий Манна-Уитни.

Увеличение КСР ЛЖ нивелируется через 2 недели реадaptации, сниженные фракции выброса и укорочения после АОВ восстанавливаются уже через 1 неделю реадaptации. Возникшее снижение насосной функции исчезает, остаются следы ремоделирования миокарда после 2-х недельного моделирования действия микрогравитации.

Таким образом, 2-х недельное вывешивание крыс негативно влияет на насосную функцию миокарда, однако найденные изменения носят обратимый характер.

Изменения массового коэффициента сердца.

В нашем исследовании был посчитан массовый коэффициент сердца, вычисляемый как отношение массы сердца к массе тела крыс и умноженный на сто процентов. Было обнаружено значимое увеличение отношения данного коэффициента (рисунок 63). Это наблюдение вместе с изменениями, выявленными при регистрации ЭхоКГ, может свидетельствовать о гипертрофических изменениях миокарда, которые нормализуются через 2 недели после реадaptации.

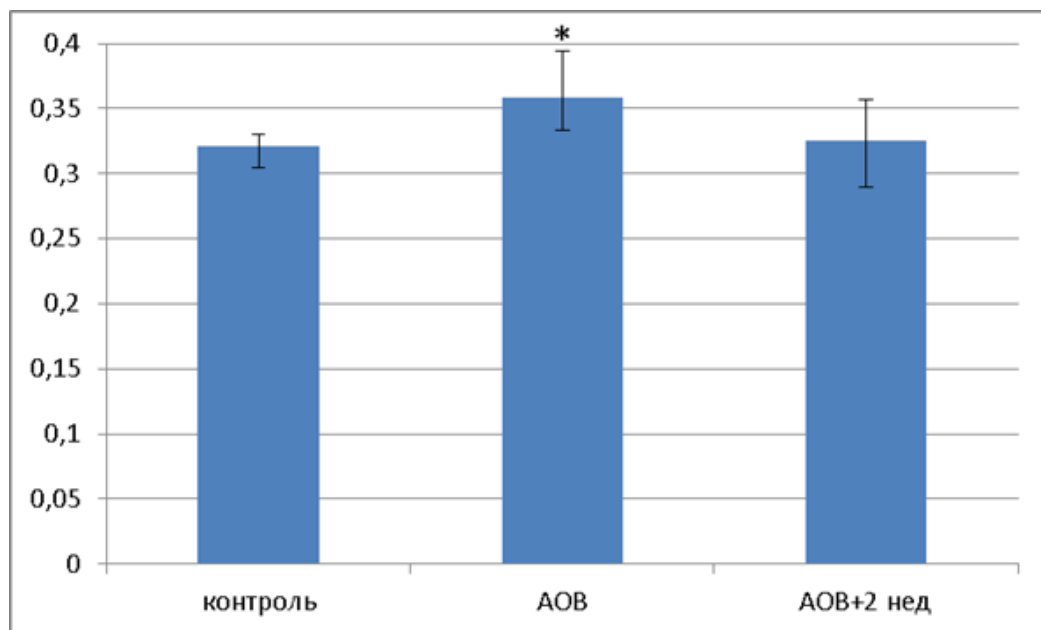


Рисунок 63. Массовый коэффициент сердца, где * - отличие от контроля, $p < 0,05$, критерий множественных сравнений.

Изменения в лейкоцитарной формуле

Поскольку в дальнейшем планировали моделирование инфаркта миокарда мы провели исследование действия эффектов микрогравитации на количество лейкоцитов и лейкоцитарную формулу. При забое была взята кровь 38 крыс для подсчета количества лейкоцитов и определения лейкоцитарной формулы.

1. Контроль – группа крыс, содержащаяся в нормальных виварных условиях в течение 2 недель, $n=19$;
2. АОВ – группа крыс, подвергшаяся моделированию действия микрогравитации в течение 2 недель с последующей реадaptацией и без нее, $n=19$.

Подсчет абсолютного количества лейкоцитов проводили в камере Горяева по стандартной методике. Определение процентного соотношения клеток крови происходило путем подсчета лейкоцитарной формулы, который проводили при иммерсионной микроскопии окрашенных мазков. Мазки крови готовили по стандартной методике. Забор крови *in vivo* осуществляли из латеральной хвостовой вены до воздействия и после, при декапитации после воздействия и через 2 недели реадaptации.

Как показано на гистограмме (рисунок 64), количество лейкоцитов у крыс до вывешивания не отличалось от контрольных значений, однако моделирование действия микрогравитации привело к их снижению.

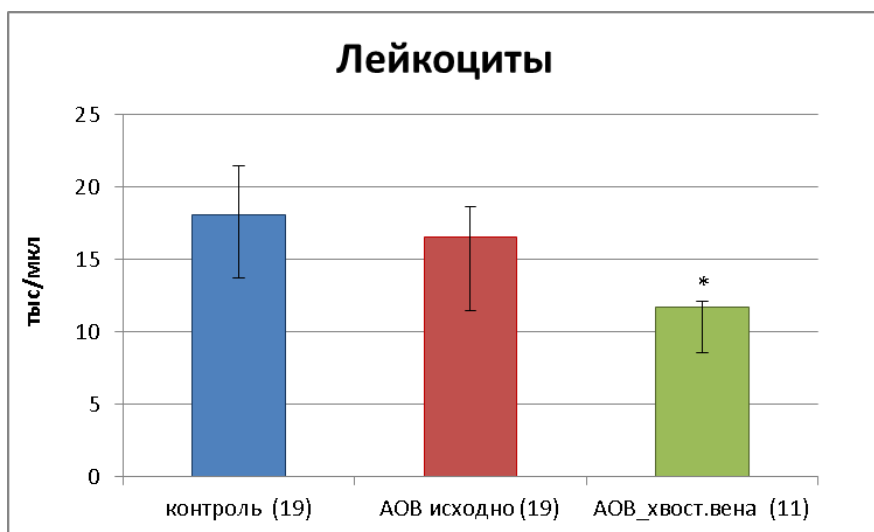


Рисунок 64. Содержание общего числа лейкоцитов в 1мкл крови из хвостовой вены, где * - сравнение с контролем, $p < 0,05$.

Также наблюдали снижение количества палочкоядерных нейтрофилов и лимфоцитов после АОВ (рисунок 65).

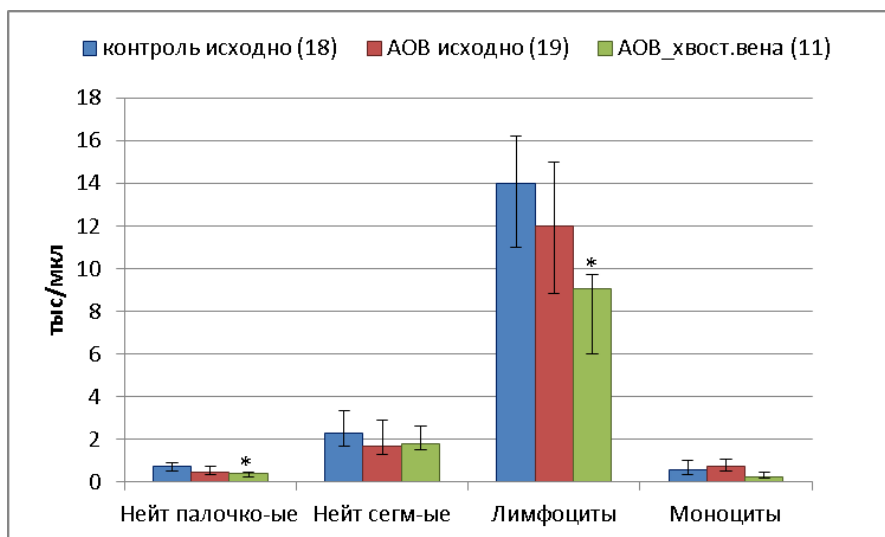


Рисунок 65. Содержание лейкоцитов разного вида в 1мкл крови из хвостовой вены, где * - сравнение с контролем, $p < 0,05$.

Было отмечено перераспределение лейкоцитарной формулы крови в сторону увеличения процента сегментоядерных нейтрофилов у крыс группы АОВ (рисунок 66).

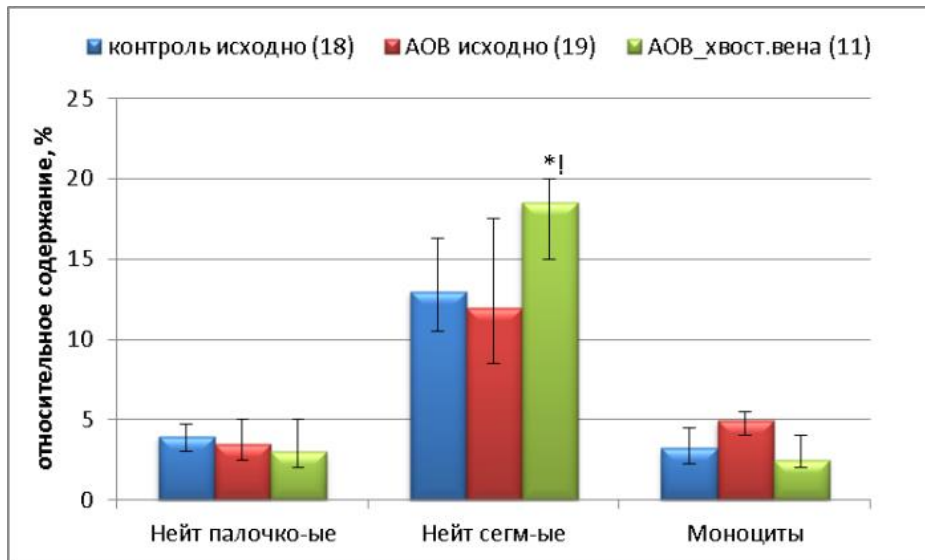


Рисунок 66. Лейкоцитарная формула крови, взятой из хвостовой вены, где * - сравнение с контролем, ! – сравнение с АОВ исходно, $p < 0,05$.

Для того, чтобы оценить последствия действия эффектов микрогравитации на клеточный состав крови, часть крыс проходила реадаптацию к нормальным условиям содержания в течение 2 недель. При сравнении количества лейкоцитов крови, взятой после декапитации, достоверных отличий не обнаружили, сохранялась лишь тенденция к повышению относительного содержания сегментоядерных нейтрофилов (рисунок 67).

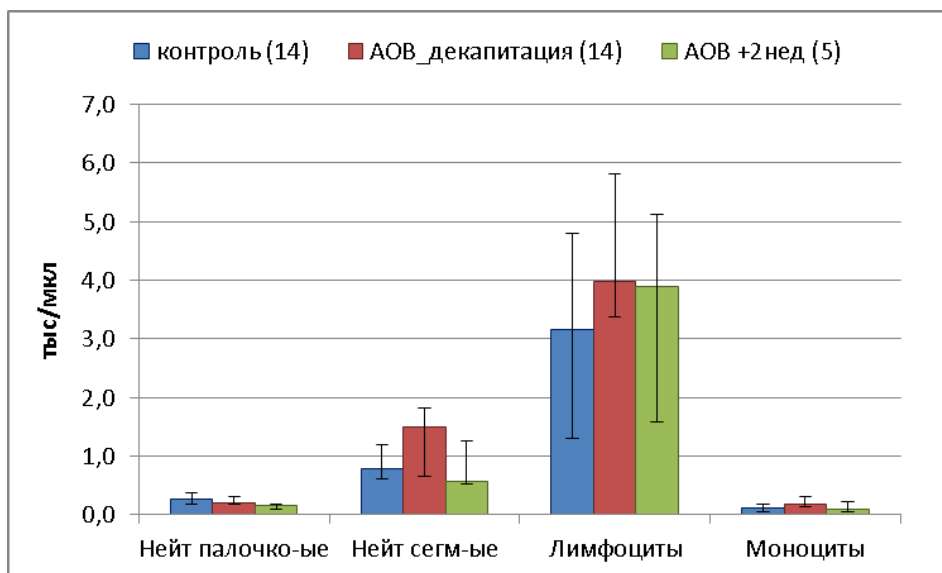


Рисунок 67. Содержание лейкоцитов разного вида в 1мкл крови, взятой при декапитации, после двухнедельной реадаптации.

Выявленные изменения в содержание клеток крови в кратчайшие сроки после АОВ: лейкопения и лимфопения, возможно связаны со снижением иммунологической реактивности. Полученные результаты согласуются с данными космических экспериментов, проведенных на мелких грызунах на биоспутниках серий «Космос» [4], и наземных экспериментов, в ходе которых моделировали эффекты микрогравитации [186], где было показано снижение клеточного и гуморального звеньев иммунологической реактивности организмов.

Зафиксированные в настоящей работе сдвиги клеточного состава периферической крови крыс имеют обратимый характер и восстанавливаются через 2 недели реадаптации до исходного уровня. Это связано с тем, что произошедшие под влиянием микрогравитации изменения относят к проявлению адаптации к ее условиям, а не к развитию патологий.

Изменения в субфракционном составе сыворотки крови

Сразу после окончания АОВ наблюдали повышение процентного вклада в светорассеяние частиц крупного гидродинамического радиуса (165-223 нм) за счет понижения процентного вклада частиц среднего гидродинамического радиуса в районе 27-37 нм. Данные изменения ЛК-спектров сохранялись и в течение 2 недель реадаптации. Через 4 недели (после 2 недель реадаптации) наблюдали более резкое изменение субфракционного состава сыворотки крови в сторону увеличения процентного вклада частиц среднего и крупного гидродинамического радиуса (67-223 нм) по сравнению с контролем. Также заметна небольшая тенденция к увеличению процента мелких частиц в сыворотке крови крыс сразу после АОВ (рисунок 68).

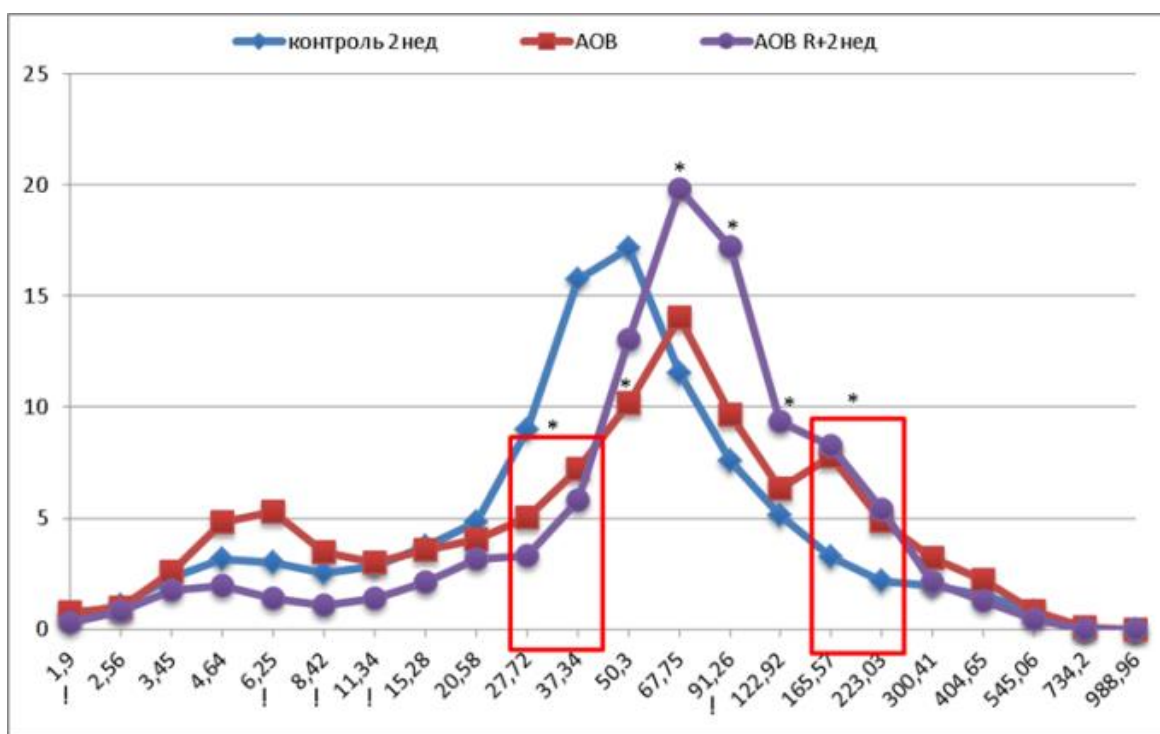


Рисунок 68. ЛК-спектры сыворотки крови крыс после АОВ. По оси ординат - вклад в светорассеяние частиц разного гидродинамического радиуса, по оси абсцисс – радиус частиц, нм. * - сравнение с контролем, ! – сравнение с группой АОВ, $p < 0,05$, критерий Манн-Уитни.

7.2 Отработка модели экспериментального инфаркта миокарда.

Для изучения особенностей развития инфаркта миокарда необходимо было отработать воспроизводимую модель этого заболевания на экспериментальных животных. В нашем исследовании сравнивали две модели острого инфаркта миокарда, используемые на крысах: метод коронарной окклюзии и фармакологическая модель инфаркта миокарда с введением изопротерина.

7.2.1 Моделирование острого инфаркта миокарда на лабораторных животных методом коронарной окклюзии.

Эксперименты проведены на 36 белых беспородных крысах – самцах весом 190 – 200 г в соответствии общими этическими принципами проведения экспериментов на животных, согласованными с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» (2003).

Животные были разделены на 3 группы: интактные животные (контроль), $n=12$; группа ложнопериованных животных (ЛО), $n=10$; группа животных с

инфарктом миокарда (ИМ), n=14. Часть животных во время операции по моделированию ИМ умерла, в дальнейших экспериментах использованы выжившие.

Хирургические манипуляции проводили в стерильных условиях под эфирным наркозом. ИМ у подопытных животных моделировали путем необратимой перевязки нисходящей ветви левой коронарной артерии (ЛКА). Для этого у крыс рассекали кожу на левой стороне грудной клетки, грудные мышцы раздвигали бескровным способом до обнажения грудной стенки. Вскрытие грудной клетки проводили посредством рассечения межреберных мышц в 4 межреберье и раздвижения ребер с помощью ретрактора. Далее с помощью пинцета удаляли перикард, сердце аккуратно извлекали из полости. Под нисходящую ветвь левой коронарной артерии с помощью атравматической иглы (5-0) подводили шелковую лигатуру и завязывали её. Затягивание лигатуры прекращало кровоснабжение участка миокарда и вызывало образование цианозного пятна на поверхности сердца.

Перевязку коронарной артерии проводили без последующей реперфузии. В группе ложнооперированных животных под артерию только подводили лигатуру, не делая перевязки. Потом возвращали сердце в грудную полость и соединяли ребра. Во избежание пневмоторакса удаляли воздух из грудной полости, и увеличивали давление в субплевральном пространстве легким нажатием на грудную клетку. После операции рану послойно ушивали. Подкожно вносили антибиотик цефазолин, кожу обрабатывали раствором йода.

ЭКГ

Развитие экспериментального острого инфаркта миокарда в ходе эксперимента подтверждали электрокардиографически. Исследование проводили под легким эфирным наркозом через 1 час и на 3 день после окклюзии. Для регистрации ЭКГ использовали компьютерный электрокардиограф «Полиспектр-8/В», игольчатые электроды вводились подкожно в дистальные участки 4-х конечностей. Изменения на ЭКГ оценивали по наиболее информативному у крыс II стандартному отведению.

Особенностями нормальной ЭКГ у крыс является отсутствие зубца Q (рисунок 69).

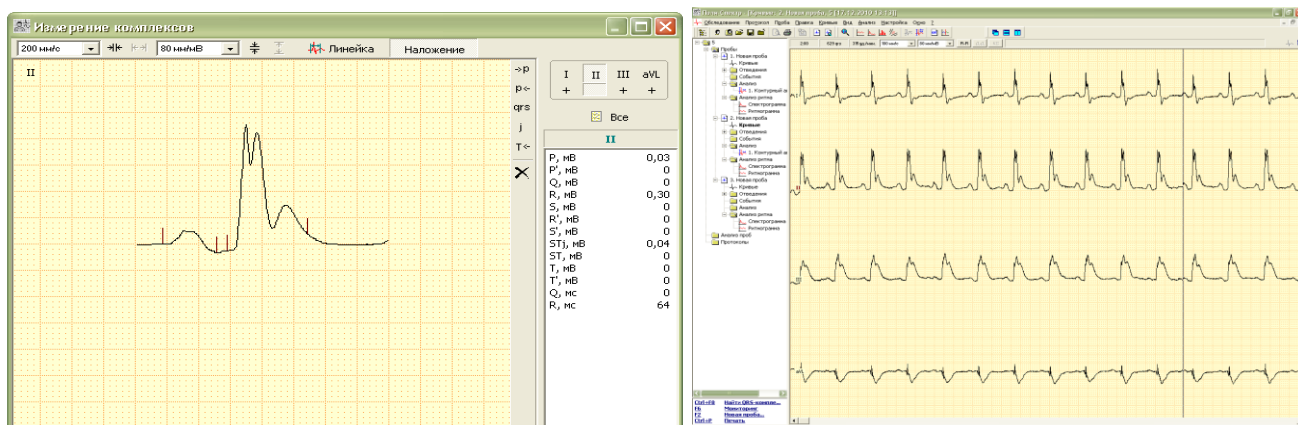


Рисунок 69. Усредненный сердечный комплекс здоровой крысы. II стандартное отведение (слева) и ЭКГ здоровой крысы (справа). Сверху вниз: отведения I, II, III и aVL.

Через 1 ч после окклюзии коронарной артерии у крыс развивались выраженные электрокардиографические изменения. Сначала наблюдалось расширение и возрастание амплитуды зубца T, что свидетельствовало о нарушении процессов реполяризации, крайне чувствительных к энергетическому дефициту, и развитии значительных ишемических нарушений в миокарде. В дальнейшем при более глубоком поражении миокарда наблюдалось нарушения процессов деполяризации, что проявлялось в смещении сегмента ST выше изолинии (рисунок 70). Такая картина соответствует острейшей стадии инфаркта миокарда, когда сливаются воедино высокий сегмент ST и увеличенный положительный зубец T, формируя монофазную кривую

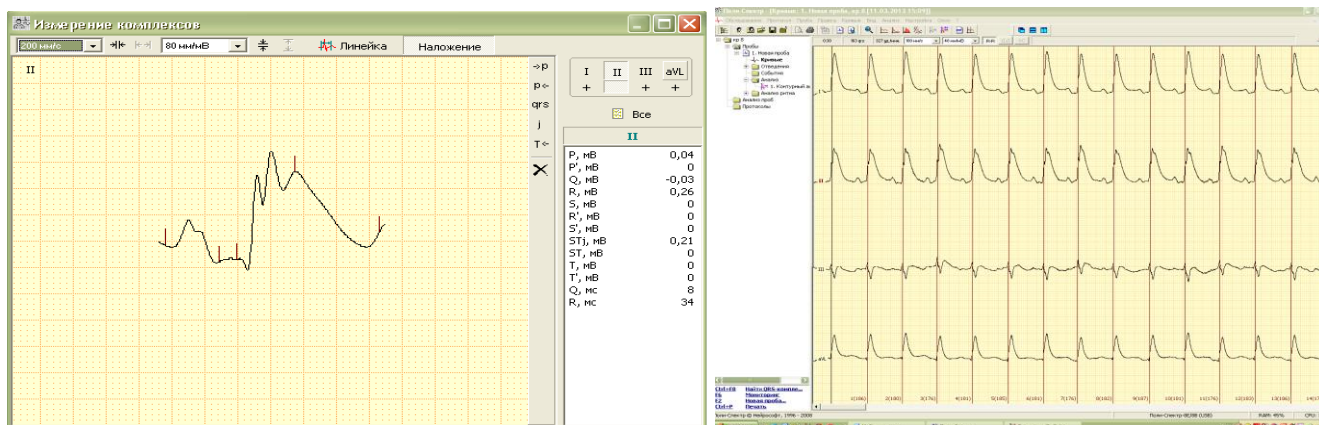


Рисунок 70. ЭКГ крысы в острейшую фазу инфаркта миокарда.

В острую стадию у животных на ЭКГ наблюдали появление зубца Q с последующим увеличением его глубины и одновременное уменьшение высоты зубца R. Наблюдаемые изменения комплекса QRS отражали формирование в сердечной мышце обширной зоны некроза. В ряде случаев комплекс QRS отсутствовал и формировался комплекс QS (рисунок 71).

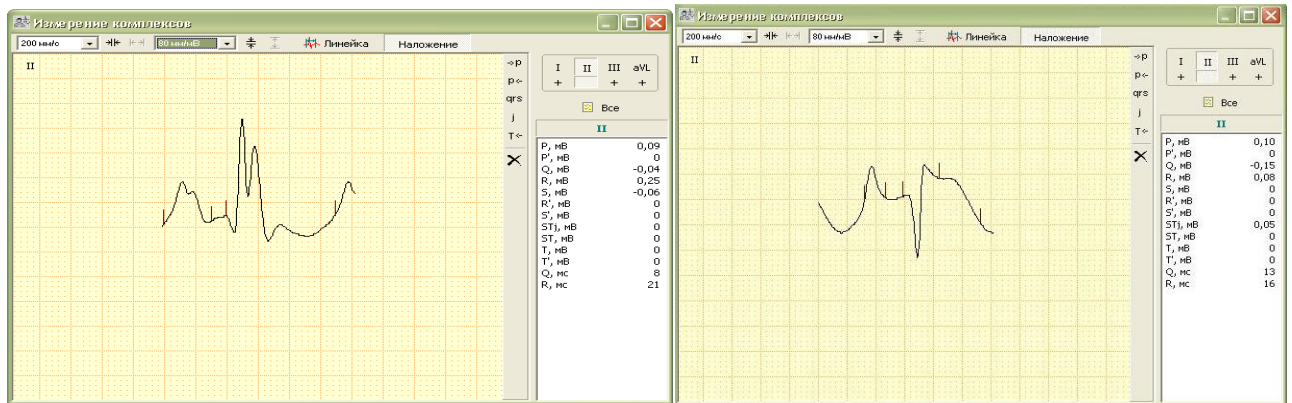


Рисунок 71. ЭКГ крысы в острую фазу инфаркта с появлением зубца Q и формированием комплекса QS.

В дальнейший эксперимент брали только тех крыс, у которых на 3 сутки в II стандартном отведении ЭКГ наблюдались признаки некроза миокарда: глубокий зубец Q или комплекс QS (рисунок 72).

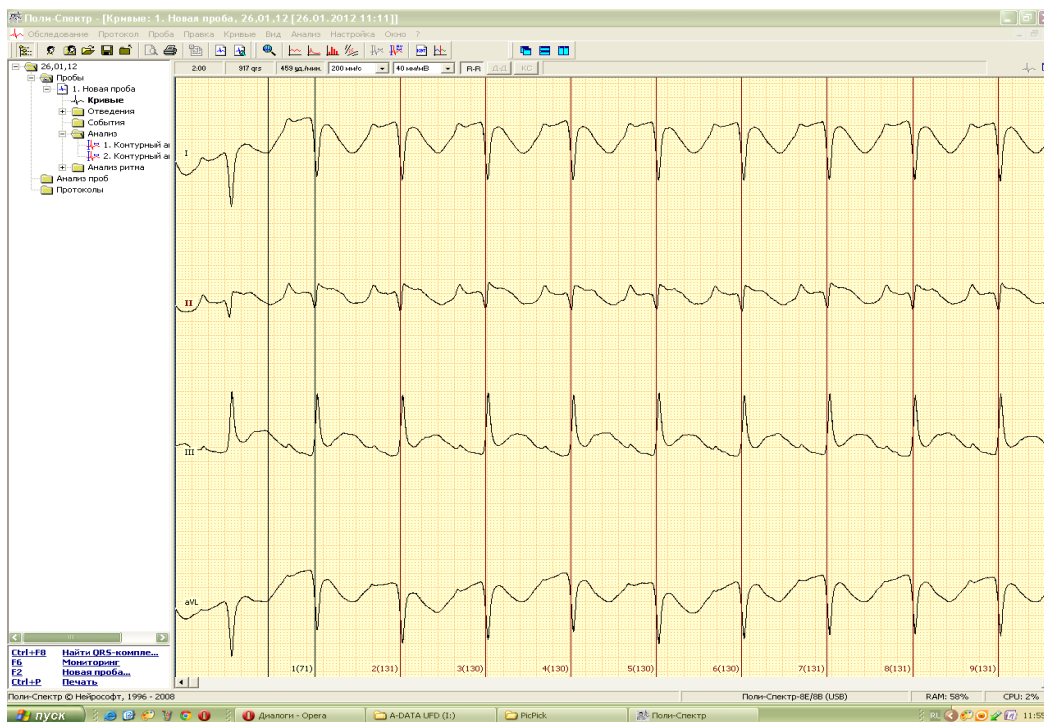


Рисунок 72. ЭКГ крысы на 3 сутки после операции (зубец Q и комплекс QS).

Глубокий зубец Q сохранялся и на 14-е сутки развития инфаркта, динамика высоты зубца R имела тенденцию к снижению, не приобретая нормальных значений. В стадию рубцевания инфаркта миокарда на месте некроза формировался прочный соединительнотканый рубец.

Гистологическое исследование

На 14 сутки эксперимента животных из эксперимента выводили путем передозировки эфирного наркоза в соответствии с методическими рекомендациями по выведению животных из эксперимента (1985).

После эвтаназии было проведено вскрытие животных с извлечением сердца для проведения дальнейшего гистологического исследования. Сердца фиксировали в 10%-ном водном растворе нейтрального формалина с дальнейшей заливкой в парафин и изготовлением серийных поперечных срезов толщиной 5 мкм на микротоме МНС-2 по общепринятым методикам. Срезы выполнены на расстоянии 4, 6 и 8 мм от верушки сердца (рисунок 73) и окрашены для обзорных целей гематоксилином и эозином, ГОПФ-методом, для оценки соединительнотканного рубца на месте инфаркта – по Массону.

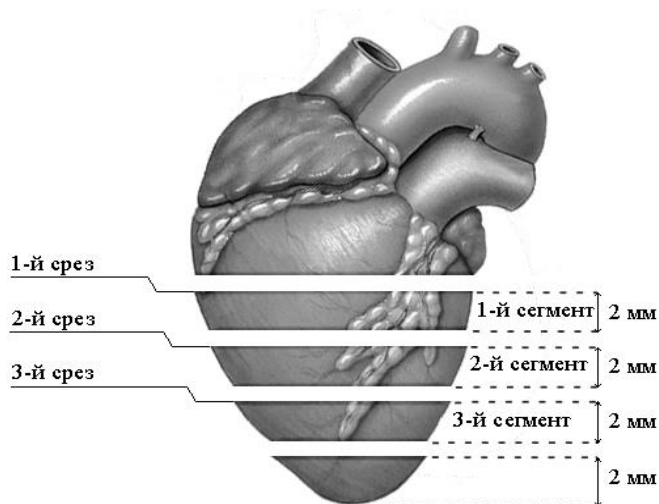


Рисунок 73. Схема расположения срезов при подготовке гистологических препаратов.

Выраженность гистологических изменений оценивали на 3 и 14 сутки после окклюзии нисходящей ветви левой коронарной артерии. Все гистологические исследования выполнены двойным слепым методом.

При этом выполнялась как качественная, так и количественная оценка структурных изменений в очаге инфаркта, перинфарктной зоне и в области рубца. Морфометрию проводили с использованием программы ImageJ Национального института здоровья (США) с набором модулей для медицинской морфометрии от Wayne Rasband.

В качестве критериев оценки функциональной морфологии миокарда были взяты следующие морфометрические показатели: протяженность и обширность зоны инфаркта, дилатация полостей сердца, объемная плотность очага некроза миокарда, выраженность лейкоцитарной инфильтрации очага и прилегающей ткани, а также площади некроза, инфильтрации, функционирующего миокарда и соединительнотканного рубца. Все объёмные плотности рассчитывали методом точечного счёта с помощью окулярной стереометрической сетки Автандилова.

Сравнение величины некротического повреждения ткани, и площади соединительнотканного рубца проводили на срезах на уровне 4-5 мм от верхушки, поскольку на срезах более удаленных от верхушки размеры зоны некроза имели существенный индивидуальный разброс.

На гистологических препаратах контрольной группы крыс сердце представлено тремя хорошо развитыми оболочками: внутренней (эндокард), средней (миокард) и наружной (эпикард). Миокард образован поперечно-полосатой сердечной мышечной тканью, состоящей из анастомозирующих мышечных волокон - кардиомиоцитов. Кардиомиоциты располагаются пучками, приблизительно одинаковой толщины, вытянутой прямоугольной формы, с чёткими контурами, овально-вытянутым ядром, занимающим в клетке преимущественно центральное положение, оксифильной цитоплазмой, имеющей чётко выраженную продольную и поперечную исчерченность (рисунок 74). В срезах представлены небольшие коронарные артерии с практически неизмененными стенками. Эндотелий сосудов уплощенной формы, без повреждений. В просвете капилляров наблюдается небольшое количество эритроцитов, не выходящих за пределы сосудов. В межмышечных пространствах встречаются единичные лимфоциты.

Морфологическая картина миокарда левого и правого желудочка существенно не различается. При окраске по Массону коллагеновые волокна в небольшом количестве обнаруживаются в адвентиции сосудов, в подэндокардиальном и подэпикардиальном слоях (рисунок 74 Б). При окраске ГОФП – методом на всей площади срезов не наблюдается следов фуксинофилии кардиомиоцитов. Миокард относительно равномерно окрашен в жёлтый цвет (рисунок 74 В).

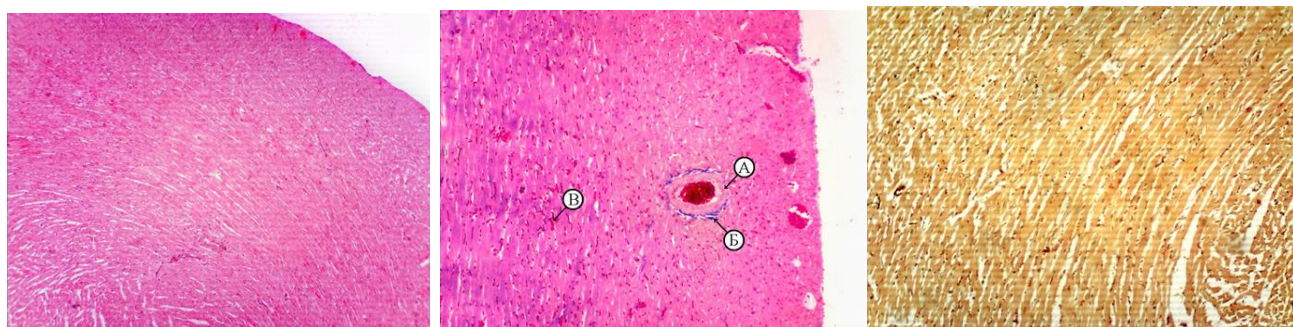


Рисунок 74. Сердце крысы контрольной группы.

А - Гистологический срез миокарда крыс контрольной группы с продольным сечением мышечных волокон. Окраска гематоксилином и эозином, 4x10;

Б - Гистологический срез миокарда крыс контрольной группы с продольным сечением мышечных волокон. А – артерия, Б – в синий цвет окрашены коллагеновые волокна адвентиции, В – капилляры. Окраска соединительной ткани по Массону, 10x10;

В - Гистологический срез миокарда крыс контрольной группы с продольным сечением мышечных волокон. Окраска ГОФП – методом, 10x10.

На гистологических препаратах группы ложнооперированных крыс можно увидеть некоторые отличия от ткани сердца крыс контрольной группы: диаметр многих капилляров несколько увеличен, в их просвете наблюдается умеренное скопление эритроцитов, не выходящих за их пределы, что указывает на активную гиперемию миокарда (рисунок 75), в межмышечных пространствах встречаются небольшие очаги лейкоцитарной инфильтрации. При окраске ГОФП – методом и при окраске по Массону миокард не имеет отличий от контрольных образцов. Морфологическая картина миокарда левого и правого желудочка существенно не различается.

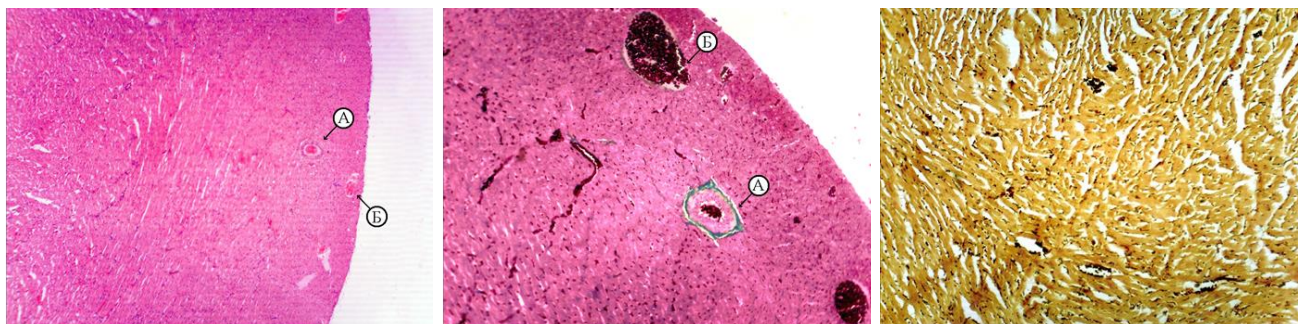


Рисунок 75. Сердце ложнооперированной крысы.

А - Гистологический срез миокарда с продольным сечением мышечных волокон, группа ложная операция. А – артерия, Б – вена. Окраска гематоксилином и эозином, 4х10;

Б - Гистологический срез миокарда с продольным сечением мышечных волокон, группа ложная операция. А – артерия, в синий цвет окрашены коллагеновые волокна адвентиции, Б – кровенаполненная вена. Окраска соединительной ткани по Массону, 10х10;

В - Гистологический срез миокарда с продольным сечением мышечных волокон, группа ложная операция. Окраска ГОФП – методом, 10х10.

На гистологических препаратах группы крыс с инфарктом, взятых на 3-й день после окклюзии, в отличие от контрольной группы и группы с ложной операцией, морфологическая картина миокарда левого и правого желудочка различаются. В миокарде левого желудочка наблюдается отчетливый коагуляционный некроз кардиомиоцитов в виде одного крупного размера очага с чёткими границами (рисунок 76). Цитоплазма кардиомиоцитов в очаге некроза гомогенная, светло-розового цвета, ядра в состоянии кариолизиса, часть клеток фрагментированы. Вокруг очага некроза наблюдается демаркационное воспаление. Пучки мышечных волокон в этом участке истончены, наблюдается выраженный отек межмышечной стромы с лейкоцитарной инфильтрацией.

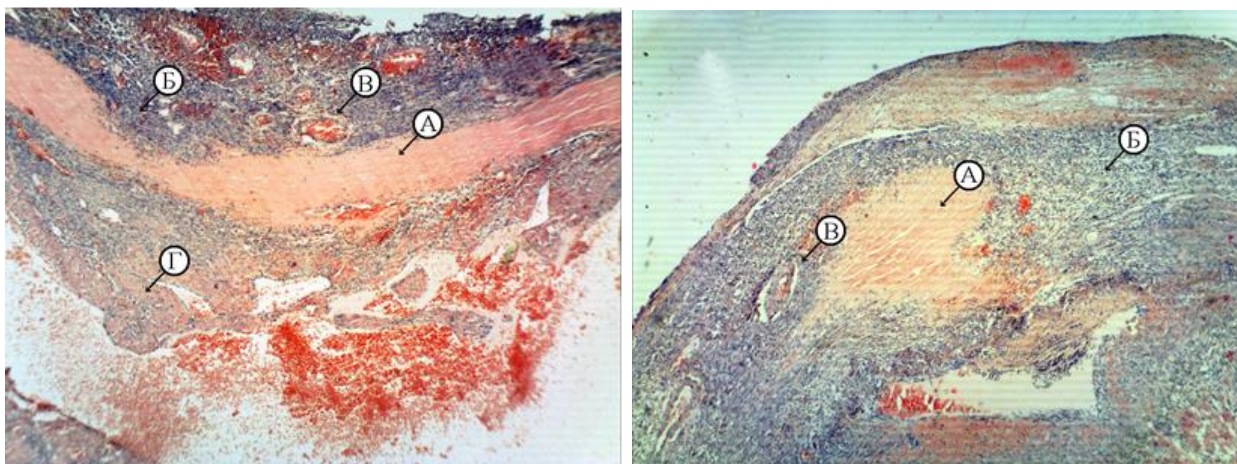


Рисунок 76. Сердце крысы с коронарной окклюзией через 3 дня после операции. Участок миокарда с некротическим очагом. А – зона некроза кардиомиоцитов, Б – лейкоцитарный инфильтрат, В – срез артериального сосуда, Г – участок неповреждённых кардиомиоцитов. Окраска гематоксилином и эозином, 4x10.

Клеточные инфильтраты, расположенные между кардиомиоцитами, содержат небольшое количество крупных макрофагов и незначительное количество элементов соединительной ткани, практически не содержащих межклеточных волокнистых структур.

При окраске по Массону (рисунок 77 А) обнаружена картина острого инфаркта миокарда в период ярких некротических изменений и начальной стадии рубцевания, со скоплением небольшого количества молодых клеток соединительной ткани по периферии инфаркта и незначительным содержанием коллагеновых волокон. При окраске ГОФП – методом на всей площади срезов наблюдается тотальная выраженная фуксинофилия цитоплазмы сохранившихся кардиомиоцитов, в виде отдельных волокон кардиомиоцитов, окрашенных в красный цвет с небольшими участками жёлтого цвета (рисунок 77 Б).

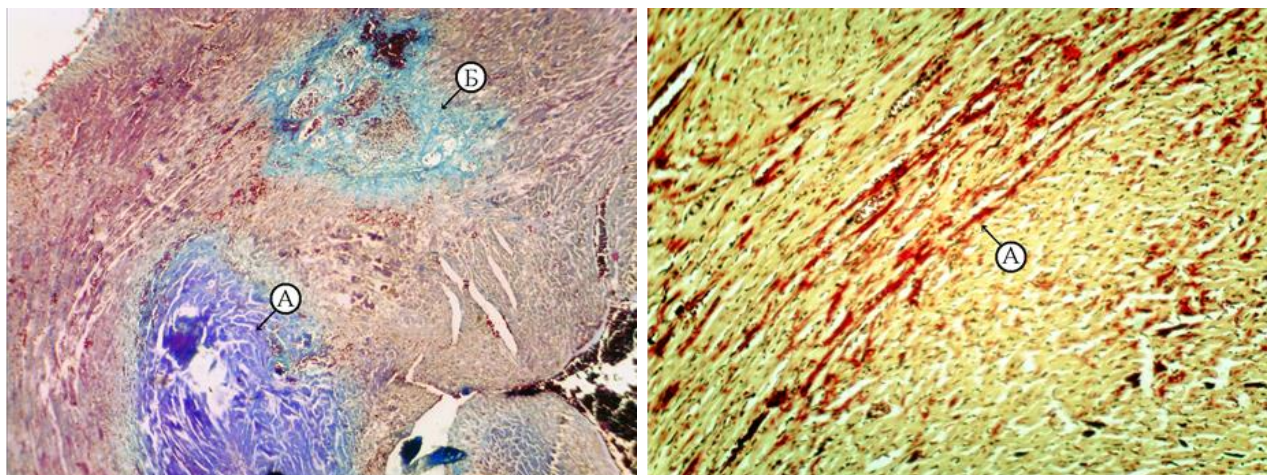


Рисунок 77. Сердце крысы с коронарной окклюзией через 3 дня после операции.

А – Гистологический срез участка некроза через 3 дня после окклюзии. А – участок некроза кардиомиоцитов, Б – в синий цвет окрашены коллагеновые волокна вокруг тонкостенных сосудов. Окраска соединительной ткани по Массону, 10x10.

Б – Гистологический срез участка некроза через 3 дня после окклюзии. А – выраженная фуксинофилия кардиомиоцитов. Окраска ГОФП – методом, 10x10.

На гистологических препаратах группы крыс с инфарктом, взятых на 14-й день после окклюзии, морфологическая картина миокарда схожа с картиной на 3-и сутки. Отличия выявлены в нескольких признаках. К 14-му дню в миокарде левого желудочка размер очага некроза кардиомиоцитов уменьшается, клеточные инфильтраты, расположенные между кардиомиоцитами, содержат большое количество крупных макрофагов и обилие элементов соединительной ткани, окружённых большим количеством коллагеновых волокон. При окраске по Массону обнаруживается картина инфаркта миокарда в стадии рубцевания: крупные участки миокарда замещены созревающей рыхлой неоформленной соединительной тканью со слабо-умеренной пролиферацией фибробластов, диффузно расположенными гемосидерофагами, тонкостенными новообразованными полнокровными сосудами. Окраска ГОФП – методом не выявила отличительных признаков сердечной ткани групп крыс с инфарктом, взятых на 3-й и 14-й день после окклюзии (рисунок 78).

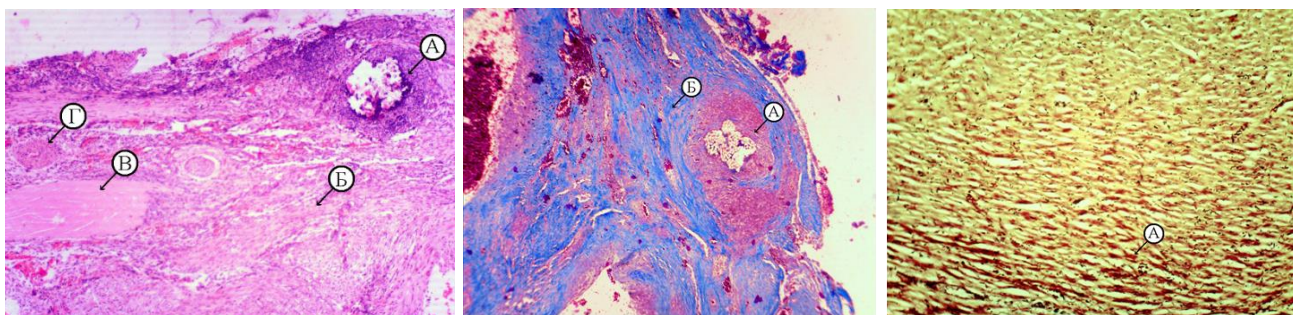


Рисунок 78. Сердце крысы с окклюзией на 14 день после операции.

А – Срез участка миокарда при формировании рубца через 2 недели после окклюзии коронарной артерии. А – сформировавшаяся гранулёма (вокруг нити) с некрозом кардиомиоцитов, Б – рубцовая соединительная ткань, В – сохранившийся участок некроза, Г – артериальный сосуд. Окраска гематоксилином и эозином, 4x10.

Б - Гистологический срез участка инфаркта миокарда в стадии рубцевания, группа инфаркт, через 14 дней после окклюзии. А – гранулёма вокруг шовного материала, Б – в синий цвет окрашены коллагеновые волокна рубца. Окраска соединительной ткани по Массону, 10x10.

В - Гистологический срез миокарда с продольным сечением мышечных волокон, группа инфаркт, через 14 дней после окклюзии. А – выраженная фуксинофилия кардиомиоцитов. Окраска ГОФП – методом, 10x10.

Морфометрическое исследование

Было проведено сравнительное морфометрическое исследование трех групп крыс, выведенных из эксперимента к 14-му дню после воздействия. Объемная плотность правого желудочка не изменяется в контроле, группах ложная операция и инфаркт. Через 14 дней после проведения операции по моделированию экспериментального инфаркта миокарда наблюдали увеличение объемной плотности левого желудочка, по сравнению с группами контроль и ложная операция, также в группе инфаркт появляется лейкоцитарная инфильтрация (рисунок 79).

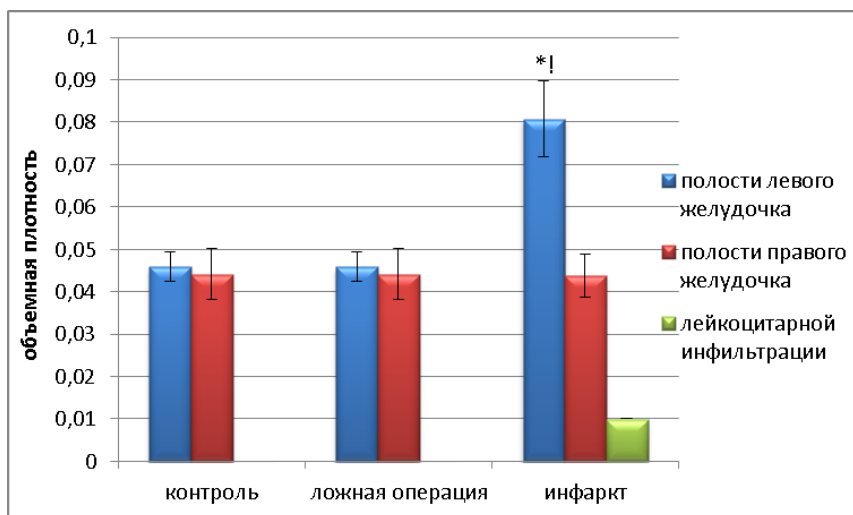


Рисунок 79. Объемная плотность желудочков и лейкоцитарной инфильтрации через 14 дней после окклюзии. * – сравнение с группой контроль, $p < 0,05$; ! – сравнение с группой ложная операция, $p < 0,05$.

Через 14 дней после окклюзии в группе крыс с экспериментальным инфарктом миокарда образуется рубцовая ткань и заметно снижается объемная плотность функционирующего миокарда по сравнению с группами контроль и ложная операция, причем у последних двух групп этот показатель достоверно не отличается (рисунок 80).

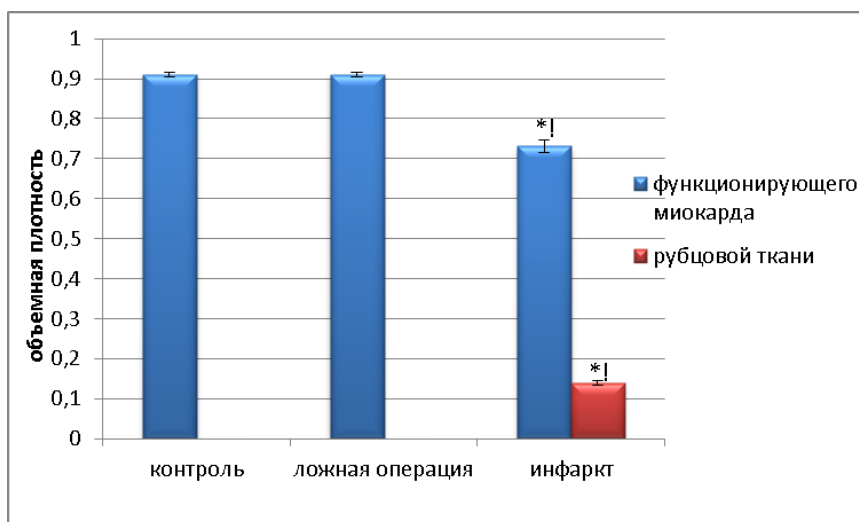


Рисунок 80. Объемная плотность функционирующего миокарда и рубцовой ткани через 14 дней после окклюзии. * – сравнение с группой контроль, $p < 0,05$; ! – сравнение с группой ложная операция, $p < 0,05$.

Исходя из полученных данных по морфометрическим и морфологическим показателям миокарда, мы видим, что у группы контроль патологических изменений в сердечной ткани нет, у группы ложная операция слабо выражены

такие признаки как: очаговое венозно-капиллярное полнокровие и лейкоцитарная инфильтрация. Это может означать, что проведенная ложная операция не затрагивает сердечную ткань, а имеющиеся морфологические отклонения связаны непосредственно с хирургическим вмешательством. Следовательно, все присутствующие изменения миокарда в опытной группе сопутствуют состоянию инфаркта миокарда (таблица 21).

Таблица 21. Степень выраженности изучаемых морфологических признаков инфаркта миокарда.

Признаки	Группа контроль	Группа ложная операция	Группа Инфаркт, через 3 дня	Группа Инфаркт, через 14 дней
Венозно-капиллярное полнокровие очаговое	—	+	—	—
Венозно-капиллярное полнокровие диффузное	—	—	++	+++
Диapedезные микрогеморрагии	—	—	+++	++
Внутрисосудистая агрегация эритроцитов	—	—	+++	+++
Неравномерность окраски кардиомиоцитов	—	+	+++	+++
Гипертрофия кардиомиоцитов	—	—	+	+++
Очаги фрагментации мышечных волокон миокарда	—	—	++	+
Волнообразная деформация мышечных волокон миокарда	—	—	+	++
Наличие контрактур	—	—	+++	++
Фуксинофилия цитоплазмы	—	—	++	++
Кариолизис	—	—	+++	++
Диссоциация мышечных волокон	—	—	+++	++
Коллагеновые волокна	—	—	+	+++
Лейкоцитарная инфильтрация	—	+	+++	+

Для оценки выраженности морфологических признаков применялись следующие условные критерии: (-) – признак не выражен; (+) – признак слабо выражен; (++) – признак умеренно выражен; (+++) – признак сильно выражен.

Биохимические показатели

В качестве биохимических маркеров миокардиального повреждения использовали уровень мозгового натрий-уретического пептида (BNP), чье содержание определяли с помощью иммуноферментного анализа в сыворотке венозной крови на 14 сутки после коронарной окклюзии (рисунок 81), и активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) (рисунок 82).

Синтез мозгового натрий-уретического пептида при сердечной недостаточности резко возрастает, он рассматривается врачами как фактор, ассоциированный с сократительной способностью сердечной мышцы и позволяющий, в какой-то степени, прогнозировать течение заболевания. В настоящее время доказана тесная связь между тяжестью острого поражения сердечной мышцы, особенно левого желудочка, и содержанием натрий-уретических пептидов в плазме крови. Повышение его уровня в крови наблюдают при сердечной недостаточности; гипертрофии левого желудочка; воспалении тканей сердца — миокардитах; остром коронарном синдроме; остром инфаркте миокарда (высвобождение пептида в результате некроза тканей).

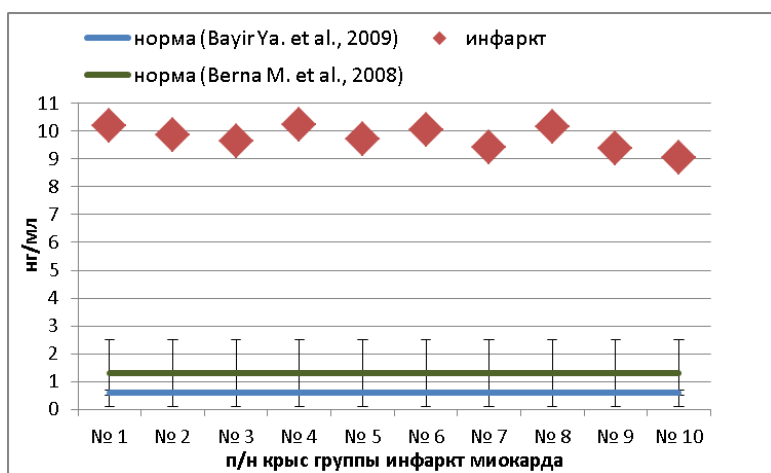


Рисунок 81. Концентрация мозгового Na-уретического пептида в крови крыс на 14 сутки после окклюзии левой коронарной артерии.

Одним из важных маркеров инфаркта миокарда может выступать активность сывороточной лактатдегидрогеназы, которая увеличивается через 10-12 часов после его развития, достигает максимальных значений в пределах 48 часов и

остается высокой на протяжении 7 суток и более. Активность ЛДГ в сыворотке крови сохраняется дольше, чем активность других ферментов. Уровень превышения ее значений нормальных показателей обычно составляет от 3-х до 4-х раз. При смазанной клинической картине заболевания, слабовыраженных изменениях на ЭКГ данные об уровне этого фермента могут существенно облегчить постановку диагноза. В наших исследованиях мы получили увеличение уровня общей активности сывороточной ЛДГ на 3 сутки в группе ложнооперированных животных и животных с развившимся экспериментальным инфарктом миокарда по сравнению с контрольными животными. Значение активности ЛДГ в группе с необратимой окклюзией левой коронарной артерии составило 125,6 у.е./л, что в 2,8 раза превышала общую активность фермента в группе ложнооперированных животных – 43,8 у.е./л. Это может отражать вклад сердечного изофермента ЛДГ в общий количественный показатель активности данного фермента (рисунок 82).

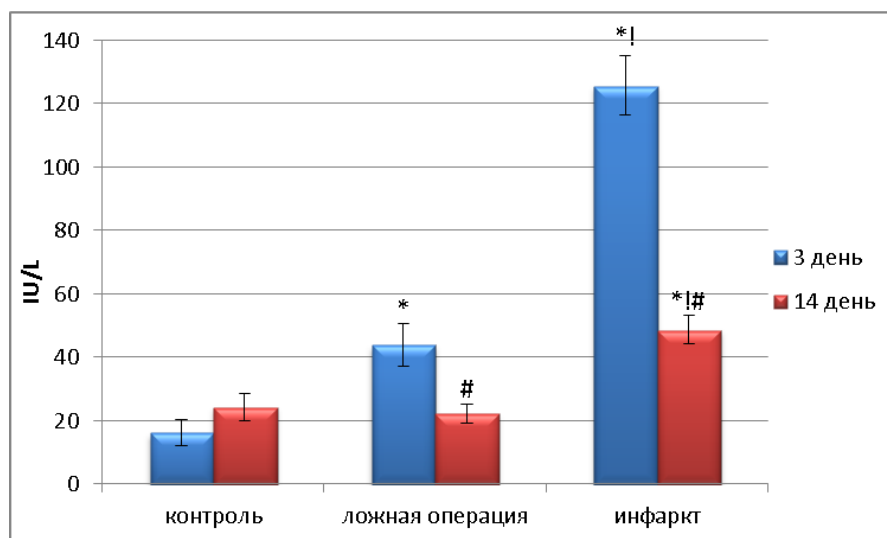


Рисунок 82. Показатели сывороточной лактатдегидрогеназы в контроле, у ложнооперированных животных и при окклюзионном инфаркте миокарда где * - сравнение с группой контроль, $p < 0,001$; ! - сравнение с группой ложная операция, $p < 0,001$ (критерий Манна-Уитни); # - сравнение 3 и 14 дней, $p < 0,05$ (критерий Вилкоксона).

Изменения в субфракционном составе сыворотки крови

Результатом исследования биологических жидкостей методом лазерной корреляционной спектроскопии (ЛКС) является информация о распределении числа частиц по их размерам (субфракционный состав) или о молекулярно-массовом распределении.

Острый инфаркт миокарда приводит к развитию каскада биохимических, нейрогуморальных и иммунных процессов, которые происходят как в самой сердечной мышце, так и на системном уровне.

Развитие асептического воспаления при инфаркте миокарда, сопровождается активацией системы провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, выработкой антител и перестройкой клеточного звена иммунитета. В ответ на повреждение тканей макрофаги и сосудистый эндотелий продуцируют цитокины — интерлейкин-1, фактор некроза опухоли и др. Непосредственно в зоне инфаркта значительно увеличивается гистаминовая продукция тучными клетками, лимфоцитами и моноцитами. Увеличивается синтез альдостерона и секреция мозгового натрийуретического пептида, который образуется в желудочках сердца при повышении растяжимости миокарда и развитии систолической дисфункции. Однако размеры молекул цитокинов и пептидов слишком малы для выявления их методом ЛКС.

Тем не менее, цитокины активизируют синтез ряда белков, к которым относятся: фибриноген, гаптоглобин, амилоидный А-белок сыворотки крови, С-реактивный белок и ряд других. Помимо этого, в сыворотку крови попадают тропонин, лактатдегидрогеназа, креатинкиназа и др., которые также могут выполнять роль маркеров развития острого повреждения кардиомиоцитов [187]. Чувствительность лазерной корреляционной спектроскопии на концентрацию белка составляет менее 1 мкг/мл, что существенно отличается и превышает чувствительность любого фотометрического метода.

На 3-и сутки после перевязки коронарной артерии статистически значимые отличия можно определить только в первой зоне, с ростом вклада в рассеивание света частиц с размерами менее 15нм как у ложноперированных крыс, так и у

инфарктных животных по сравнению с контрольной группой. Отличия ложнооперированных животных от крыс с инфарктом миокарда выявляется только в точке 2,5 нм. Таким образом, сдвиг в частицах размером 15 нм, обусловлен общей воспалительной реакцией в ответ на хирургическую агрессию, а изменения вклада в светорассеивание частиц с размером 2,5 нм вызван некрозом кардиомиоцитов. Кроме того, у оперированных животных можно отметить уменьшение вклада в светорассеивание частиц с размером от 37 до 92 нм и некоторое увеличение в диапазоне более 300 нм, по сравнению с контрольной группой (рисунок 83).

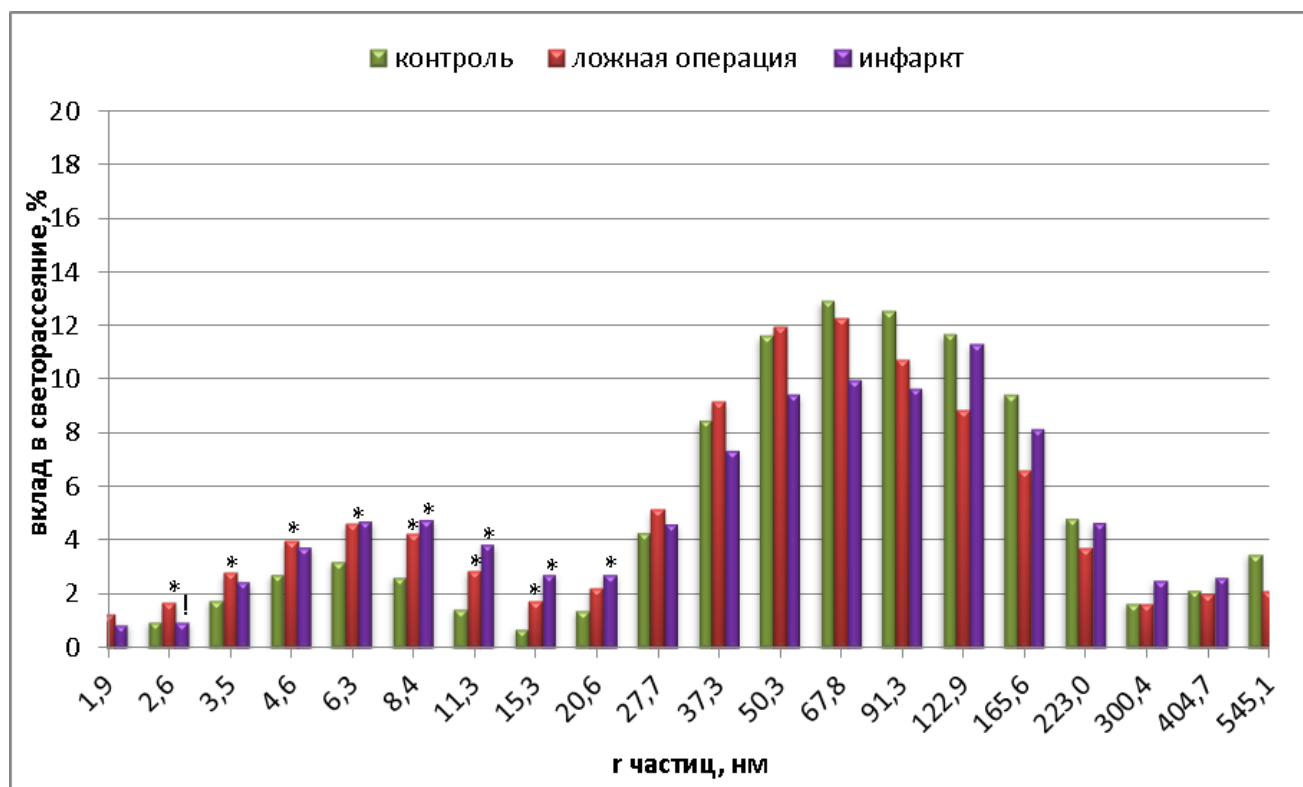


Рисунок 83. Вклад в светорассеивание частиц различного размера сыворотки крови крыс ложнооперированной, оперированной и контрольной групп, на 3 сутки после операции, где * - сравнение с группой контроль, $p < 0,05$; ! - сравнение с группой ложная операция, $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни).

Через 2 недели мы наблюдали похожее распределение частиц по вкладу в светорассеивание, как и на 3-и сутки. В зоне частиц малого диаметра от 2 до 5 нм, мы также видим увеличение вклада в светорассеивание в группах оперированных и ложнооперированных животных. Кроме того, в этих группах статистически значимо увеличивается количество частиц с размером от 20 до 50 нм и уменьшается

количество частиц с размером от 67 до 122 нм, по сравнению с контрольной группой (рисунок 84).

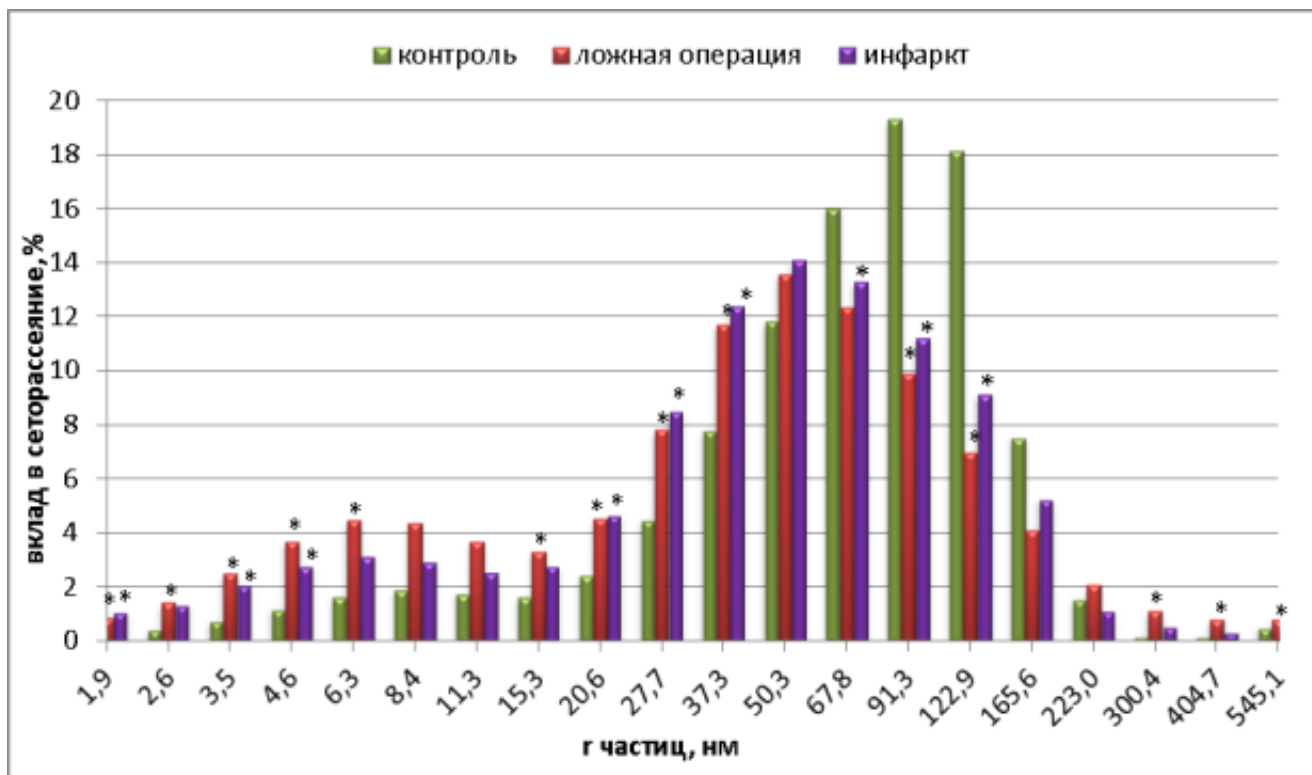


Рисунок 84. Распределение по размерам частиц сыворотки крови крыс через 14 дней после окклюзии, где * - сравнение с группой контроль, $p < 0,05$, (критерий Манна-Уитни).

Зная величину «молекулярной массы лактатдегидрогеназы (144 кДа), миоглобина (16-20 кДа), тропонинов (18, 24, 37 кДа), белка, связывающего жирные кислоты (15 кДа) и исходя из строения белка как идеальной сферы, размеры (радиус) таких органических соединений находятся в пределах 1,5-3,5 нм» [188]. Но с учётом наличия у белков гидратной оболочки и действительную структуру белковых молекул, вероятно, что их радиус Стокса находится в пределах 10 нм. Таким образом увеличение вклада в светорассеивание частиц из 1 зоны (до 10 нм) может свидетельствовать о повышении в крови маркеров инфаркта миокарда.

7.2.2 Моделирование острого инфаркта миокарда на лабораторных животных методом введения изопротеренола.

Одним из основных факторов, повреждающих миокард при стрессовых воздействиях, является избыточный выброс катехоламинов и их токсическое действие на кардиомиоциты. Введение изопротеренола (ИЗО) крысам часто

используют для изучения экспериментальных моделей мелкоочагового инфаркта миокарда (ИМ), сердечной недостаточности (СН), гипертрофии левого желудочка (ЛЖ). В нашем исследовании моделировали фармакологическое повреждение миокарда введением субтоксических доз изопротеренола как наиболее активного синтетического катехоламина длительного действия.

Эксперименты выполнены на 40 белых нелинейных крысах-самцах массой 200-250г. Крысы были разделены на группы по 20 животных: «контроль» и группа «изопротеренол». Животных содержали в условиях вивария на стандартном рационе без ограничения в пище и воде со сменой светового режима каждые 12ч.

Изопротеренол вводили подкожно в холку (в дозе 80 мг/кг в день в объеме 2 мл) в течение 2-х последовательных дней с перерывом между инъекциями 24 часа.

ЭКГ

Через 72 часа после первого введения регистрировали ЭКГ с помощью компьютерного электрокардиографа «Полиспектр-8/В». Игольчатые электроды вводились подкожно в дистальные участки 4-х конечностей. ЭКГ регистрировали в 1, 2, 3 стандартных и в усиленном aVL отведениях. Производилась 2-минутная непрерывная регистрация ЭКГ животных, наркотизированных эфиром. Изменения на ЭКГ оценивались по наиболее информативному у крыс II стандартному отведению.

Анализировали записи ЭКГ, не содержащие эктопических сокращений, определяли ЧСС, строили ритмограммы и спектрограммы с помощью программ «Нейрософт» (Россия). Оценивали ЧСС, длительность R-R интервалов, длительность интервалов, сегментов и амплитуду пиков PQRS – комплекса, рассчитывали спектральные показатели variability сердечного ритма (BCP).

Оценивали следующие временные показатели BCP, рассчитываемые по массиву кардиоинтервалов: SDNN (мс) – стандартное отклонение величин RR; RMSSD (мс) – квадратный корень из суммы квадратов разностей величин последовательных пар RR интервалов и CV% ($CV = SDNN/RRNN \times 100\%$) коэффициент вариации, нормированный по частоте пульса показатель эффекта вегетативной регуляции. Из спектральных показателей variability сердечного

ритма оценивали: Тр – общая мощность спектра в диапазоне (0 - 3,0 Гц), HF - мощность спектра высокочастотного диапазона ВСР (0,75-3,0Гц), LF - мощность спектра низкочастотного диапазона variability (0,2-0,75Гц), и VLF - мощность спектра в диапазоне очень низких частот (0-0,2Гц).

Анализ предварительных результатов показал, что величина ЧСС в группе ИЗО не отличалась от значений контроля (рисунок 85).

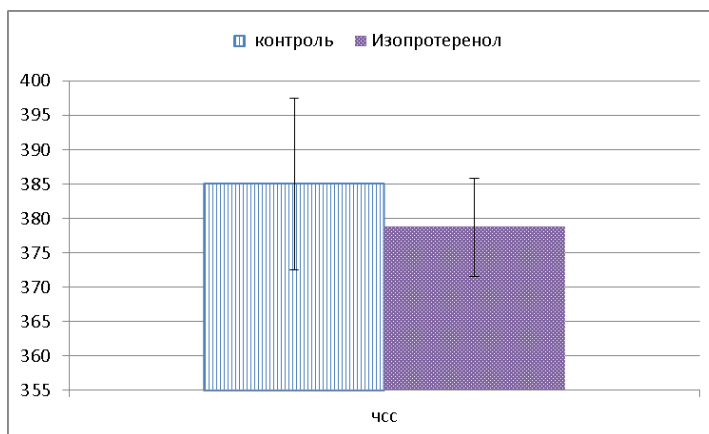


Рисунок 85. Величины ЧСС в группе с введением изопротеренола по сравнению с контролем.

Длительность интервала PQ снижалась после введения препарата, это укорочение могло отражать процесс ускорения проведения возбуждения по атрио-вентрикулярному соединению, т.е. сокращалось время передачи электрического импульса от синусового узла в предсердии до сократительных волокон, расположенных в желудочках (рисунок 86).

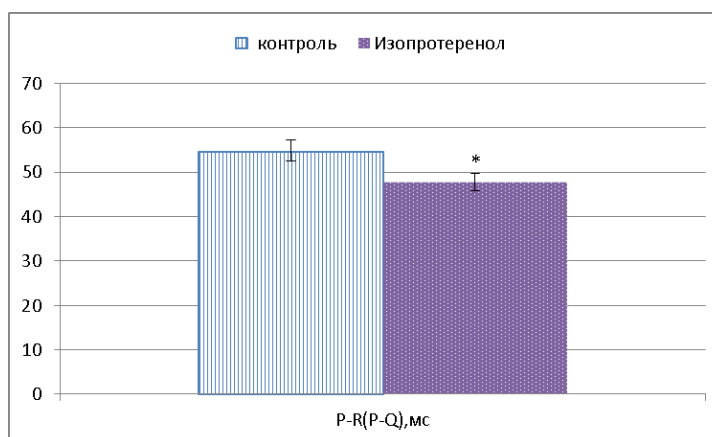


Рисунок 86. Длительность интервала PQ в группе с введением изопротеренола по сравнению с контролем, мс. *- $P < 0,05$ (критерий Манна-Уитни).

Также наблюдали смещение сегмента ST ниже изолинии, что могло отражать процессы ишемизации тканей сердечной мышцы. Смещение сегмента ST рассматривают как результат расстройства возбуждения вследствие повреждения миокарда (рисунок 87).

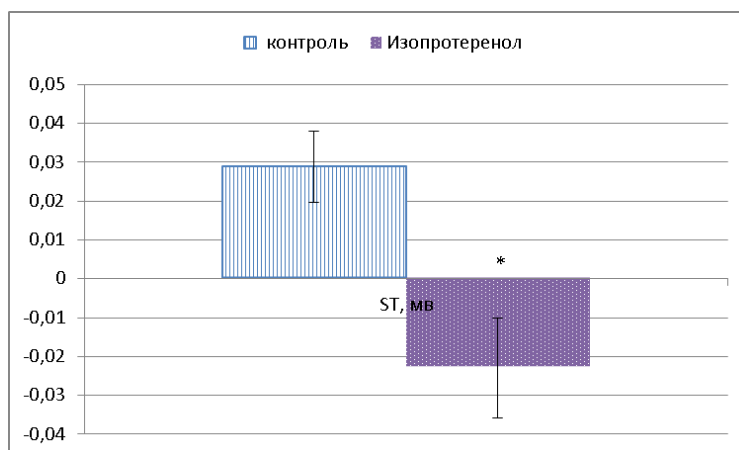


Рисунок 87. Смещение сегмента ST в группе с введением изопротеринола по сравнению с контролем, мВ. *- $P < 0,05$ (критерий Манна-Уитни).

Наблюдали тенденцию к смещению вегетативного баланса в группе ИЗО в сторону симпатикотонии по сравнению с контролем (рисунок 88).

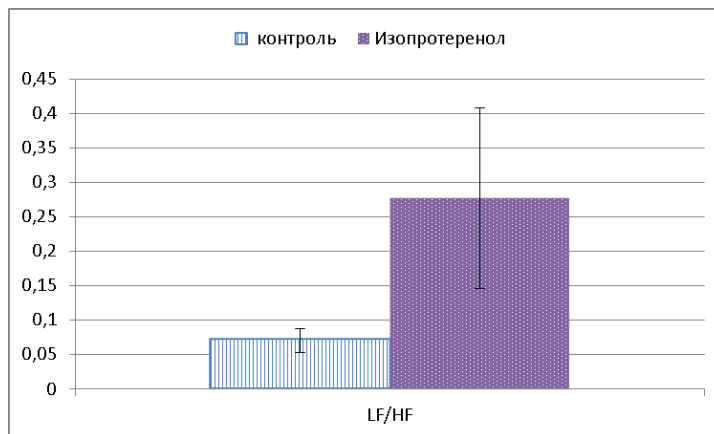


Рисунок 88. Отношение низко- к высокочастотной составляющей спектра ВСР в группе с введением изопротеринола по сравнению с контролем.

ЭХО-КГ

Эхокардиографическую оценку геометрии левого желудочка у наркотизированных крыс (хлоралгидрат 350 мг/кг, в/б) производили в одномерном М- и двумерном В-модальных режимах по методу Тейнхольцу при положении

датчика эхокардиографа в парастеральной позиции по длинной оси сердца (рисунок 89). В М-модальном режиме оценивали конечно-систолический (КСР) и конечно-диастолический (КДР) размеры левого желудочка сердца, на основании чего рассчитывали такие показатели насосной функции сердца как фракция выброса (ФВ) и фракция укорочения (ФУ). Эхокардиографические показатели оценивали, как минимум, по пяти последовательным сердечным циклам. Все измерения проводили в соответствии с Рекомендациями Американского общества и Европейской ассоциации по эхокардиографии.

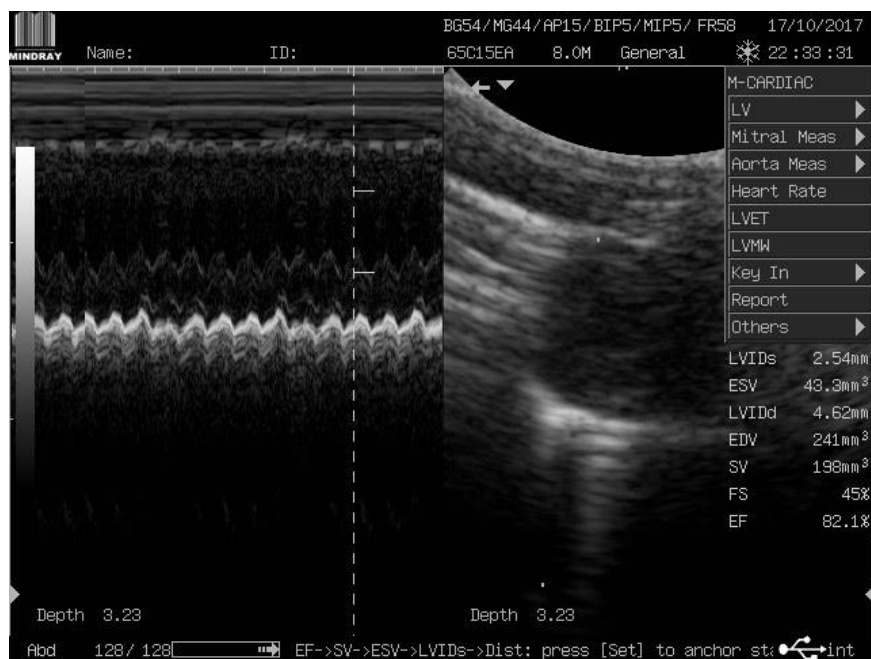


Рисунок 89. Пример эхокардиограммы животного через 14 дней после последнего введения изопроterenола. Результаты: КСР- 2,54 мм, КДР – 4,62 мм, ФУ – 45%, ФВ – 82,1%.

Таким образом, хотя состояние внутрисердечной гемодинамики в примере, находится в пределах физиологической нормы, отмечена тенденция к формированию систолической дилатации левого желудочка сердца.

Гистологическое исследование

Забор и подготовку материала проводили так же, как и у животных с коронарной окклюзией.

На гистологическом препарате стенка сердца представлена тремя хорошо различимыми слоями: внутренним (эндокард), средним (миокард) и наружным (эпикард). Морфологическая картина миокарда в разных участках

гистологического среза имеет определенные локальные особенности, хотя типичное строение органа сохранено.

В миокарде как левого, так и правого желудочка наблюдается неравномерная морфология кардиомиоцитов с чередованием двух картин патологических процессов: выраженной белковой зернистой дистрофии кардиомиоцитов и субтотальной умеренно-выраженной их гипертрофией.

Дистрофически изменённые кардиомиоциты располагаются пучками, приблизительно одинаковой толщины, вытянутой прямоугольной формы, с нечёткими контурами, овально-вытянутым ядром, занимающим в клетке преимущественно центральное положение, оксифильной зернистой цитоплазмой с нечёткой продольной и поперечной исчерченностью.

Отдельные кардиомиоциты находятся в состоянии некробиоза, что проявляется процессами лизиса и глыбчатого распада их цитоплазмы.

Гипертрофированные кардиомиоциты отличались крупными размерами, неравномерной толщиной волокон и полиморфизмом ядра, которое принимало у одних кардиомиоцитов округлую, у других - вытянутую форму.

Также в миокарде видны нечёткие проявления нарушения сердечного ритма в виде многочисленных мышечных волокон в состоянии диссоциации, фрагментации и волнообразной деформации. В отдельных волокнах кардиомиоцитов встречаются контрактуры (рисунок 90).

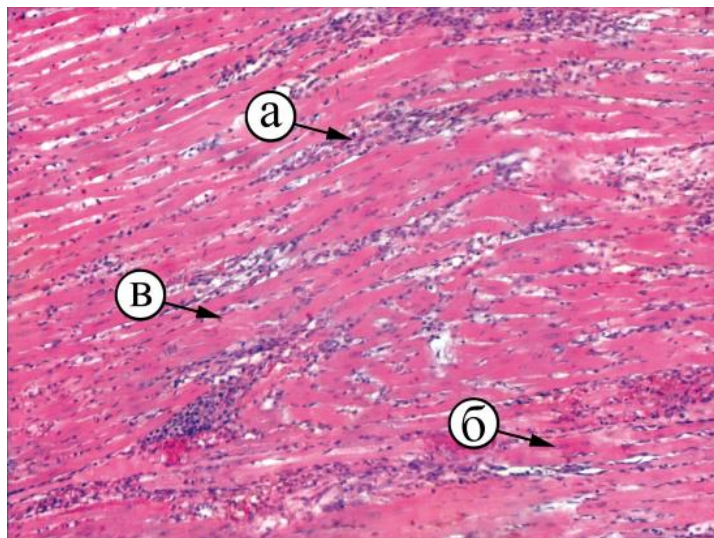


Рисунок 90. Гистологический срез миокарда крысы после введения изопротеренола. а – участок контрактуры кардиомиоцитов; б – кардиомиоцит в состоянии некробиоза (лизис и глыбчатый

распада цитоплазмы); в – клеточная инфильтрация в межмышечной интерстициальной ткани миокарда. Окраска гематоксилином и эозином. Окуляр X10, объектив X10.

Диффузно среди пучков кардиомиоцитов располагаются многочисленные клетки мезенхимального (фиброциты, фибробласты) и миелоидного (макрофаги, нейтрофилы) происхождения, с преобладанием первых. Наиболее массивные скопления этих клеток наблюдаются рядом с очагами кардиомиоцитов в состоянии дистрофии, некробиоза, фрагментации и диссоциации. В очагах инфильтрации практически не содержится межклеточных волокнистых структур.

В срезах представлены крупные и мелкие коронарные артерии и вены в состоянии резкого полнокровия. Наблюдается плазматическое пропитывание стенок артерий и фибриноидный некроз адвентиции крупных артериальных сосудов. Эндотелий сосудов выглядит «гофрированным» и утолщенным, местами отслаивается и имеет выпячивания внутрь сосуда. Количество капилляров в пределах гистологического среза увеличено. Просвет большинства капилляров пуст. Между пучками кардиомиоцитов наблюдается умеренный интерстициальный отёк (рисунок 91).

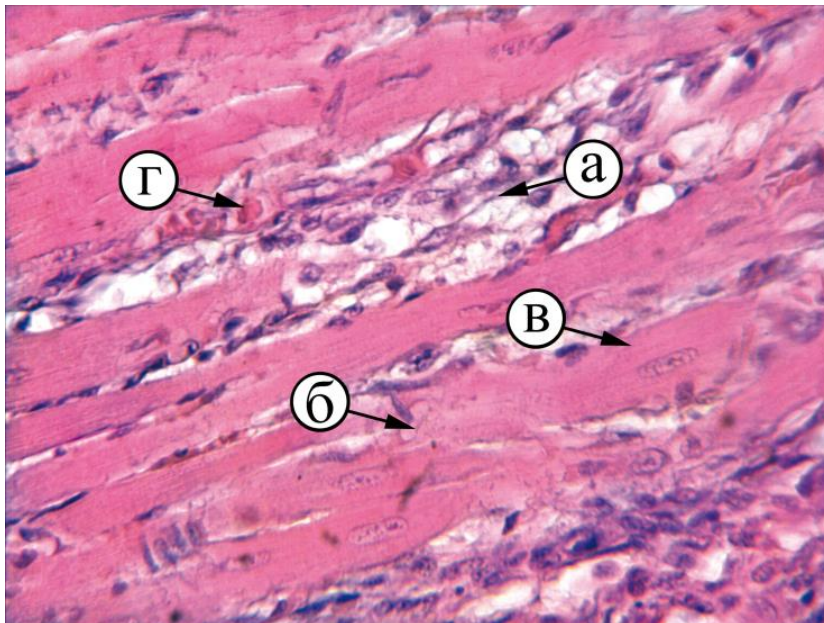


Рисунок 91. Гистологический срез миокарда крысы после введения изопротеренола. а – кардиомиоцит в состоянии гипертрофии; б – кардиомиоцит в состоянии гипертрофии; в – отёк межклеточной интерстициальной ткани; г – расширенные капилляры. Гематоксилин и эозин. Окуляр X10, объектив X40.

На основании данных гистологического исследования следует заключить, что микроморфологическая картина сердца характерна для острого интерстициального миокардита.

Биохимические методы

Российские национальные рекомендации и стандарты медицинской помощи больным с острым ИМ включают обязательное исследование биохимических маркеров некроза миокарда. Однако практическое применение рекомендованных кардиомаркеров в ранней диагностике острого ИМ имеет ряд существенных недостатков вследствие низкой специфичности (миоглобин, МВ-КФК) и относительно позднего повышения (тропонины). В данном исследовании мы выбрали в качестве измеряемого маркера тропонин I из-за широкого интервала времени, в течение которого можно зафиксировать его нарастание. С другой стороны, в клинике нарастание этого маркера наблюдают примерно в половине случаев ИМ. Тестирование проводили с помощью иммунохроматографического набора "Кард-инфо 1+1", основываясь на том, что используемые в его составе антитела к сердечному тропонину, а именно клоны IC4 и IC19 обладают кросс-реактивностью с тропонином I в вестерн-блоттинге как у человека, так и у крыс.

В тестировании были использованы 17 образцов сывороток крови крыс – 5 контрольных, 4 животных опытной группы, у которых была взята кровь через 3, 6 и 20 часов после второго введения препарата.

K1	Контроль
K2	Контроль
K3	Контроль
K4	Контроль
K5	Контроль
2.1	образец сыворотки крови, взятый через 3 часа после 2-го введения препарата
3.1	образец сыворотки крови, взятый через 3 часа после 2-го введения препарата
4.1	образец сыворотки крови, взятый через 3 часа после 2-го введения препарата
5.1	образец сыворотки крови, взятый через 3 часа после 2-го введения препарата
2.2	образец сыворотки крови, взятый через 6 часа после 2-го введения препарата
3.2	образец сыворотки крови, взятый через 6 часа после 2-го введения препарата
4.2	образец сыворотки крови, взятый через 6 часа после 2-го введения препарата
5.2	образец сыворотки крови, взятый через 6 часа после 2-го введения препарата

- 2.3 образец сыворотки крови, взятый через 20 часов после 2-го введения препарата
- 3.3 образец сыворотки крови, взятый через 20 часов после 2-го введения препарата
- 4.3 образец сыворотки крови, взятый через 20 часов после 2-го введения препарата
- 5.3 образец сыворотки крови, взятый через 20 часов после 2-го введения препарата

Таблица 22. Результаты иммунохроматографического определения тропонина I в сыворотке крови экспериментальных животных

	2.1	2.2	2.3	2.4	3.1	3.2	3.3	3.4	4.1	4.2	4.3	5.1	5.2	5.3	к1	к2	к3	к4	к5
Контр. полоса	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Тропонин I	+	+	+/-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Видно, что маркер кардионекроза тропонин I выявлен у двух из четырех животных, которым вводили изопротеренол, что соответствует клинической частоте обнаружения этого вещества при остром ИМ. Качество определения контролировалось во всех пробах (см. строку «Контр. полоса» в таблице 22). Учитывая появление положительной реакции уже на ранних стадиях развития патологии (3-6 час), на следующих этапах исследования целесообразно сопоставить определение тропонина I с белком, связывающим жирные кислоты. Тропонин считается высокоспецифичным маркером острого инфаркта миокарда, но в тоже время существует целый ряд патологических состояний, при которых в крови определяется его повышенный уровень. Это происходит при миокардитах и перикардитах, ТЭЛА, кардиомиопатии, медицинских воздействиях на сердце (радиочастотная абляция, электрическая кардиоверсия, кардиохирургические операции), а также при не кардиологической патологии: воспалительных заболеваниях мышечного аппарата, длительных физических нагрузках, сепсисе, химиотерапии и других процессах, сопровождающихся некоронарогенными некрозами кардиомиоцитов [189].

Литературные данные по изопротериноловой модели

Введение изопротеренола крысам часто используют для изучения экспериментальных моделей мелкоочагового инфаркта миокарда, сердечной недостаточности (СН), гипертрофии левого желудочка (ЛЖ). Для проведения

острых экспериментов изопротеренол вводят внутривенно (в/в) [190, 191, 192], а для моделирования более пролонгированных экспериментов - подкожно или внутривенно [193]. Причем, при моделировании ИМ и постинфарктной СН, препарат вводят дважды с интервалом 24 ч [194, 195, 196], а при моделировании гипертрофии ЛЖ – большее число раз, но в меньшей дозе [197, 198, 199].

Действие изопротеренола сопровождается повреждением миокарда вследствие множественных микронекрозов и дозозависимых нарушениях гемодинамики [195, 200]. Активация β -адренорецепторов изопротеренолом приводит к выраженному ускорению ритма следования потенциалов действия миокарда [201], резкому увеличению электрической нестабильности миокарда [190] и вызывает ишемические повреждения [191]. В большинстве случаев об изопротеренол-индуцированной ишемии свидетельствует депрессия сегмента ST на ЭКГ [192], что мы наблюдали в наших экспериментах (рисунок 87).

Изопротеренол нарушает транспорт Ca^{2+} в кардиомиоцитах, что приводит к изменению расслабления и сократимости миокарда. Следствием снижения расслабления и сократимости миокарда является неполное опорожнение камеры ЛЖ в систолу, что приводит к повышению конечного диастолического давления (КДД). Другим фактором, способствующим повышению КДД, является закономерное повышение диастолической упругости миокарда (или снижение его растяжимости) вследствие отека и развивающегося фиброза, ограничивающих нормальное растяжение миокардиальных волокон. В наших исследованиях были зафиксированы сдвиги на эхокардиограмме, свидетельствующие о развитии этих процессов (рисунок 89). В совокупности эти факторы способствуют повышению КДД - обязательному признаку диастолической СН, впоследствии приводящей и к систолической СН [195, 200].

Еще одним из основных возможных механизмов сердечного повреждения, вызванного изопротеренолом, считают сильный окислительный стресс. Окислительный стресс является преобладающим механизмом в некрозе миокарда. Изопротеренол вызывает генерацию АФК, которые инициируют перекисное окисление полиненасыщенных жирных кислот, что приводит к увеличению уровня

малонового диальдегида и нарушениям в мембранах кардиомиоцитов [202, 200]. Введение изопротеренола вызывает дисфункцию митохондрий [197], снижает уровень сердечных эндогенных антиоксидантов, что приводит к дисбалансу в активности антиоксидантной системы [197, 202] в сторону проокисления.

В конечном итоге, действие изопротеренола на миокард вызывает инфильтрацию, интерстициальный отек, некроз кардиомиоцитов, что и было получено в наших экспериментах (рис. 90, 91).

В работах других исследователей регистрировали повышение концентрации маркеров повреждения сердечной ткани в сыворотке: сердечной лактатдегидрогеназы, аспартатаминотрансферазы, креатинкиназы-MB, тропонинов (Т, I) [203], Na-уретического пептида, изменение гемодинамики, ремоделирование левого желудочка, ведущее к гипертрофии [199, 200, 198]. Перечисленные вещества являются ранними маркерами для обнаружения ишемических нарушений миокарда, и, например, содержание сердечного тропонина I тесно связано со степенью поражения миокарда. Полученные нами результаты (таблица 22) согласуются с данными литературы.

Показано, что экспериментальный ИМ, вызванный введением изопротеренола, приводит к увеличению маркеров воспаления в сыворотке крови, а именно: IL-6, С-реактивный белок и ФНОα. Развитие воспалительной реакции включает в себя различные каскады, которые опосредуют увеличение образования и секреции IL-6, что в итоге стимулирует к секреции дальнейших провоспалительных цитокинов и хемокинов посредством активации NF-κB [202, 197]. Ишемические изменения миокарда приводят к значительным метаболическим и гемодинамическим изменениям, сопровождаемые воспалительными процессами. Воспалительная сигнализация в кардиомиоцитах может быть инициирована и каноническими путями - внеклеточной цитотоксической стимуляцией рецепторов клеточной поверхности. Избыточное действие на ФНО-рецептор типа-1 кардиомиоцита индуцирует сократительную дисфункцию, гипертрофию, фиброз и клеточную смерть. Цитокины воспаления могут выделяться из соседних кардиомиоцитов в результате воспалительной активации,

тем самым усиливая воспалительный сигнал и увеличивая степень повреждения [202]. Таким образом, введение изопротеренола для экспериментального моделирования инфаркта миокарда и других сердечно-сосудистых нарушений, приводит к обширным и значительным патологическим изменениям в миокарде.

Обобщая наши собственные данные и результаты полученные другими исследователями можно сказать, что изопротереноловая модель инфаркта миокарда имеет свои недостатки и преимущества. К недостаткам, по сравнению с окклюзионной моделью, можно отнести отсутствие чётко видимой зоны некроза, не такие ярко выраженные морфологические и биохимические признаки. К плюсам данного метода можно безусловно отнести существенно меньшую летальность в опытной группе крыс, по сравнению с оперированными животными. Кроме того, изопротереноловый метод является широко используемой и хорошо отработанной методикой.

В дальнейших исследованиях в качестве модели инфаркта миокарда была выбрана модель с введением изопротеренола.

7.3 Исследование влияния эффектов моделированной микрогравитации на развитие инфаркта/ишемического повреждения миокарда непосредственно после вывешивания.

Эксперименты проведены на 161 особи белых беспородных крысах – самцах весом 220 – 290 г, в соответствии общими этическими принципами проведения экспериментов на животных, согласованными с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» (2003).

Животные были разделены на 4 группы: группа 1 – интактные животные (контроль, n=38); группа 2 – крысы, подвергшиеся антиортостатическому вывешиванию в течение 2 недель (АОВ, n=35); группа 3 – крысы с изопротеренол-индуцированным очагово-диффузным инфарктом миокарда (Iso, n=45); Группа 4 – группа крыс с экспериментальным ИМ после двухнедельного АОВ (АОВ+Iso, n=43).

Изменение массы тела крыс.

Вывешивание в течение двух недель ожидаемо повлекло за собой резкую потерю массы тела (рисунок 92 А) и стойкое снижение ее прироста (рисунок 92 Б). В течение двух недель реадaptации происходила нормализация данных показателей. При последовательном воздействии вывешивания и изопротеренола (гр. АОВ+Iso) прирост массы тела не восстанавливался в течение 5 недель. Введение изопротеренола без вывешивания на массу тела не повлияло, однако повлекло обратимое замедление темпа прироста массы тела.

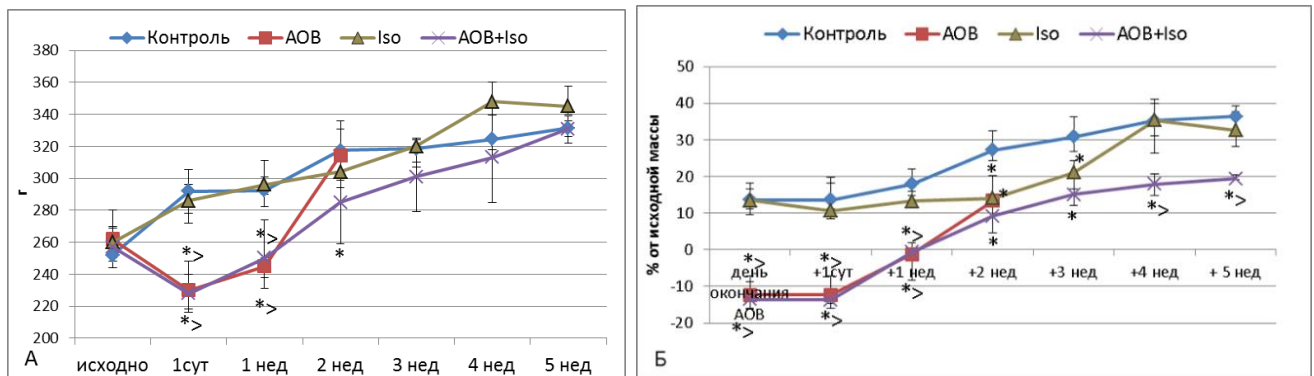


Рисунок 92. Изменение массы тела крыс. А – абсолютная масса тела, г. Б – прирост массы тела, %. Где * – сравнение с группой контроль, > – сравнение с группой Iso, $p < 0,05$, критерий множественный сравнений Z.

ЭКГ

Были проанализированы изменения электрической проводимости сердца и ритмограммы под действием моделируемой микрогравитации и изопротеренол-индуцированного экспериментального ИМ по отдельности и совместно. Контурный анализ ЭКГ крыс опытных групп выявил снижение амплитуды Р (рисунок 93 А) и R (рисунок 93 Б) зубцов по сравнению с контролем в разные сроки после последнего оказанного воздействия. В группе АОВ наиболее значимое снижение амплитуды Р и R зубцов выявили сразу после окончания вывешивания; в группе с экспериментальным ИМ – амплитуда Р зубца была снижена через 3 и 4 недели, R-зубца – через сутки и 4 недели; в группе АОВ+Iso снижение амплитуды наблюдали только у Р зубца (через 2 и 4 недели), при этом на следующие сутки после введения изопротеренола в I отведении амплитуда R

зубца была выше, чем в контроле. Зарегистрированное снижение амплитуды R зубца зачастую сопровождалось укорочением его длительности (рисунок 93 В).

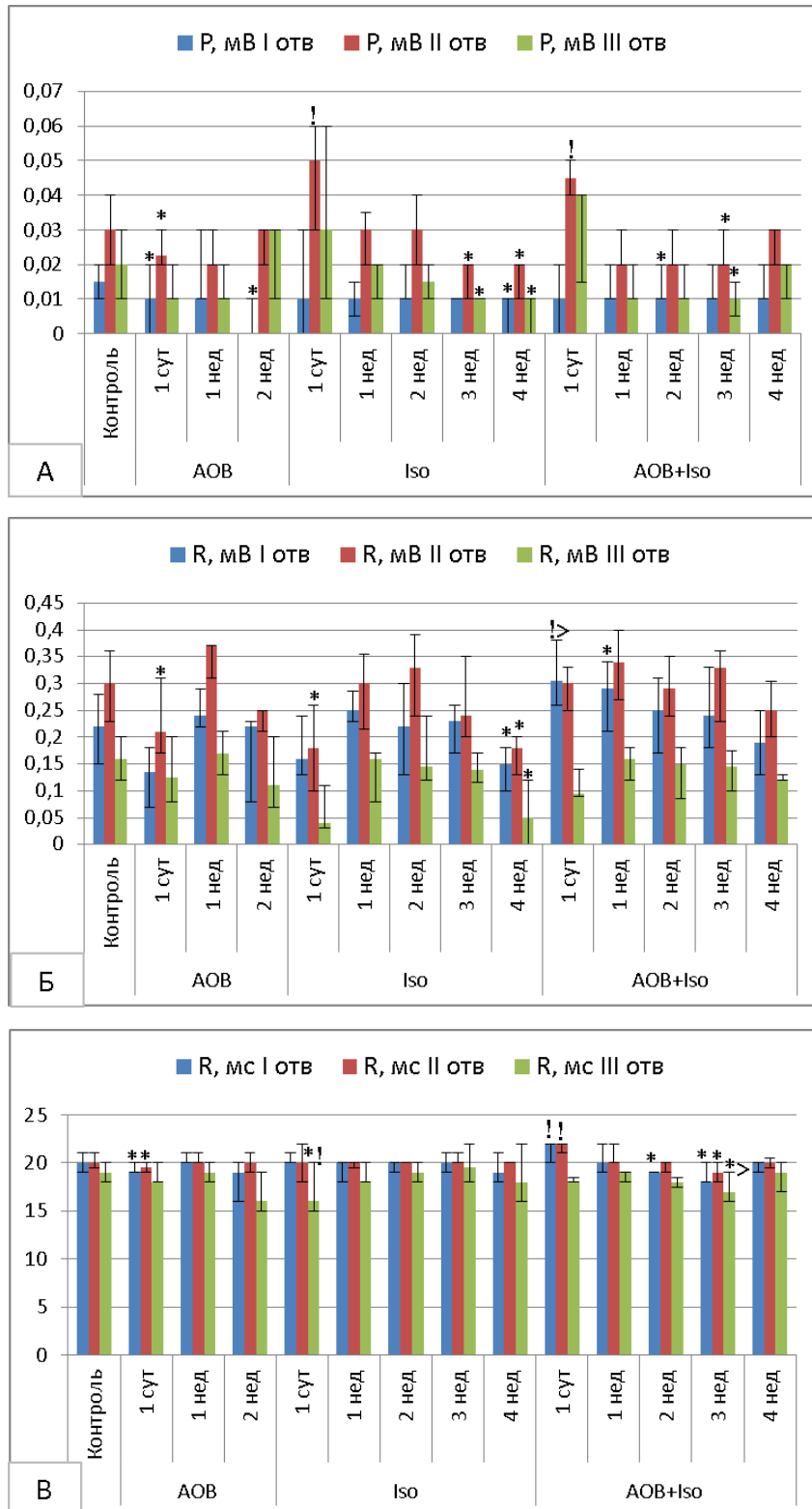


Рисунок 93. Изменение длительности и амплитуды зубцов. А – амплитуда Р зубца. Б – амплитуда R зубца. В – длительность R зубца. Где * – сравнение с контролем, ! – сравнение с группой AOB, > – сравнение с группой Iso, $p < 0,05$, критерий множественных сравнений Z.

После введения изопротеренола в группах Iso и AOB+Iso частота сердечных сокращений была понижена, причем в группе AOB+Iso снижение ЧСС регистрировали в более поздние сроки (рисунок 94).

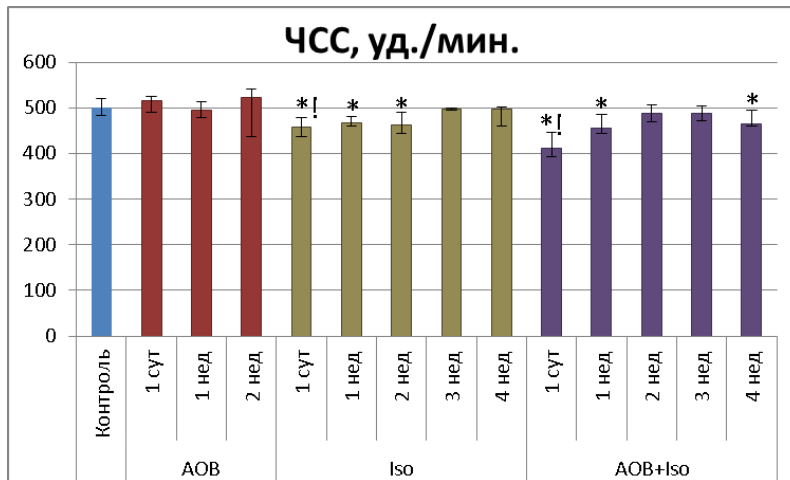


Рисунок 94. Изменение ЧСС. * – сравнение с контролем, ! – сравнение с группой AOB, $p < 0,05$, критерий множественных сравнений Z.

Характерной особенностью для группы AOB+Iso было наиболее выраженное и продолжительное увеличение длительности комплекса QRS и интервала QTc (рисунок 95).

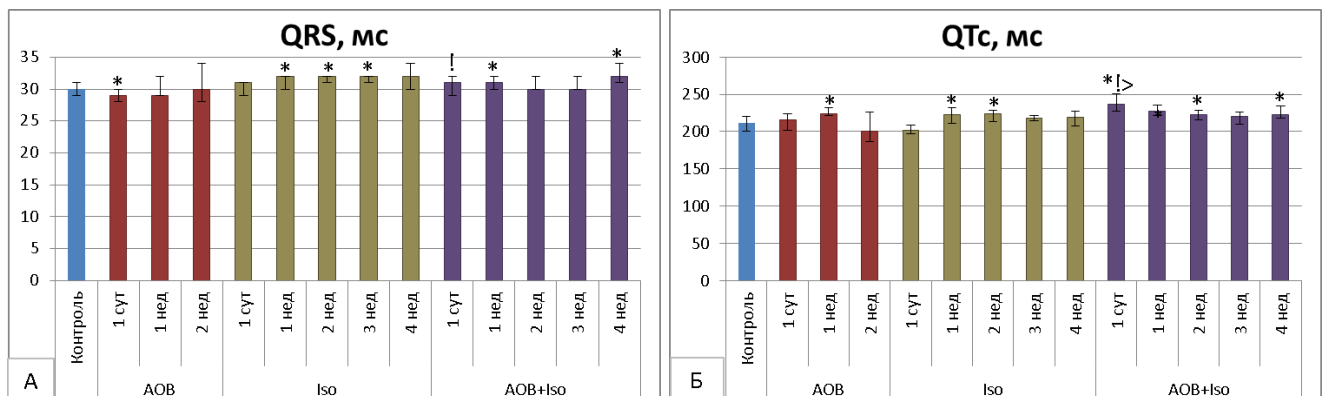


Рисунок 95. Длительность комплекса QRS и интервала QTc. * – сравнение с контролем, ! – сравнение с группой AOB, > – сравнение с группой Iso, $p < 0,05$, критерий множественных сравнений Z.

Зарегистрированные изменения в ЭКГ крыс после вывешивания (R, мВ и QT, мс) имеют обратимый характер и нивелируются через 2 недели реадaptации к нормальным виварным условиям содержания. Такие изменения могли возникнуть в результате электрического ремоделирования за счет активации адаптационных реакций в ответ на действие моделируемой микрогравитации. Введение изопротеренола как с, так и без предварительного вывешивания вызывало

изменения в электрической проводимости сердца в течение всего времени наблюдения. Выявленное снижение амплитуды зубца R считают одним из признаков уменьшения сократительной способности миокарда, что характерно при развитии ИМ, также как и уширение комплекса QRS, приводящее к увеличению продолжительности интервала QT. Корригированный интервал QT (QTc) соответствует полному циклу деполяризации и реполяризации желудочков, отражает электрическую систолу желудочков с поправкой на текущую частоту сердечного ритма. Увеличение продолжительности интервала QT в опытных группах свидетельствует о замедленной реполяризации желудочков, возможно, о наличии ишемии. Такое изменение является электрофизиологическим субстратом появления желудочковых аритмий. В группе крыс с экспериментальным ИМ, которому предшествовало действие моделируемой микрогравитации, выявленные изменения ЭКГ имели наиболее выраженный характер по сравнению с группами крыс AOB и Iso.

Клинический анализ крови.

При подсчете абсолютного количества лейкоцитов было установлено, что антиортоостатическое вывешивание вызвало их снижение. Уменьшение количества лейкоцитов произошло за счет снижения числа лимфоцитов и моноцитов в крови (рисунки 96 А, 98 А). Введение изопротеренола вызывало небольшое увеличение абсолютного и относительного числа нейтрофилов и снижение числа лимфоцитов (рисунок 96 Б), а воздействие двух факторов в группе AOB+Iso – достоверное изменение содержания нейтрофилов и лимфоцитов (рисунок 96).

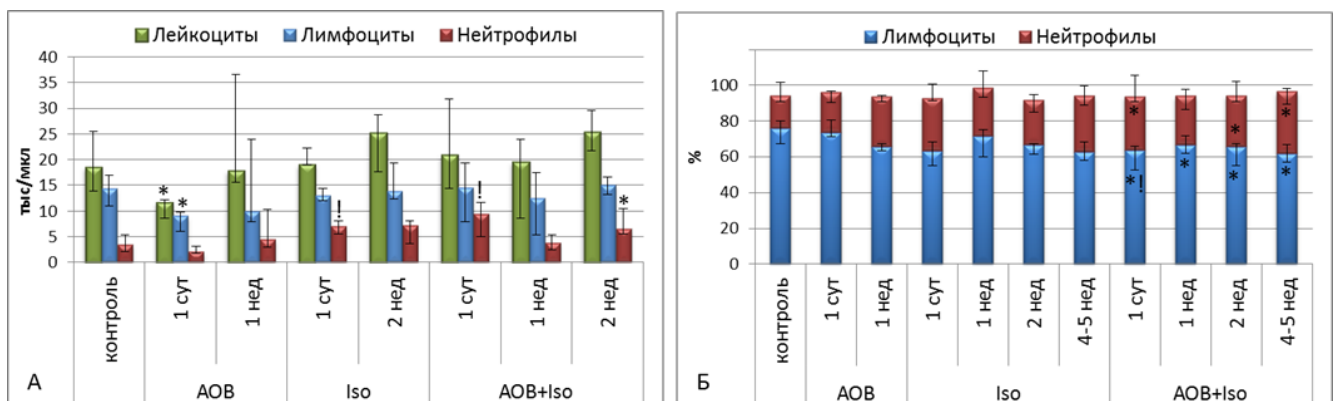


Рисунок 96. Количество лейкоцитов, лимфоцитов и нейтрофилов в крови крыс. А – абсолютное количество клеток в 1 мкл крови. Б – процентное содержание клеток. Где * – сравнение с

контролем, ! – сравнение с группой АОВ, > – сравнение с группой Iso, $p < 0,05$, критерий множественных сравнений Z.

Изменения в содержании общего числа нейтрофилов (Нейт) в группах Iso и АОВ+Iso произошли за счет увеличения количества сегментоядерных нейтрофилов (в группе Iso – тенденция, в группе АОВ+Iso – достоверное отличие от контроля) (рисунок 97 А). При этом, в лейкограмме крови крыс наблюдали увеличение относительного содержания как сегментоядерных, так и палочкоядерных нейтрофилов (рисунок 97 Б).

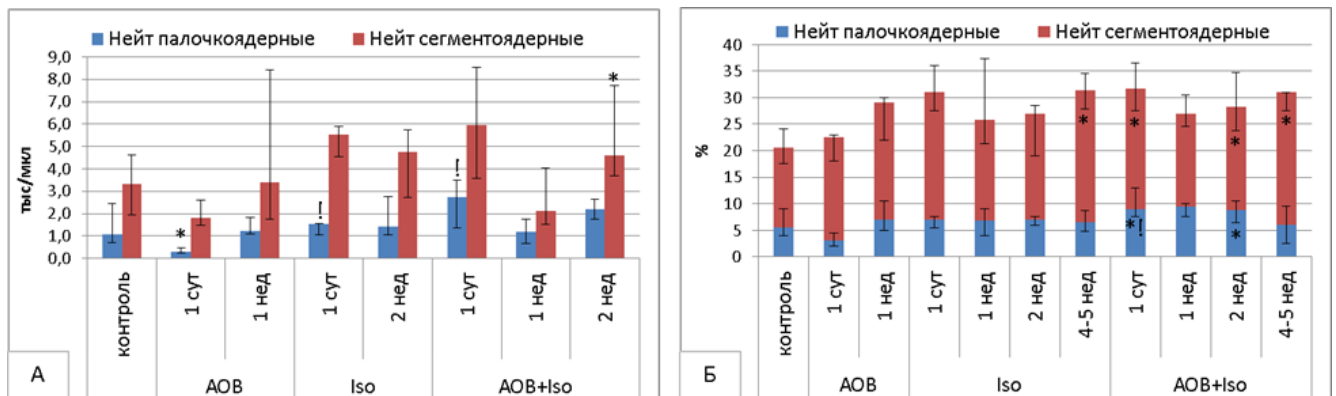


Рисунок 97. Количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов. А – абсолютное количество клеток в 1 мкл крови. Б – процентное содержание клеток. Где * – сравнение с контролем, ! – сравнение с группой АОВ, $p < 0,05$, критерий множественных сравнений Z.

Изопротеренол-индуцированный ИМ вызывает развитие воспалительной реакции, сопровождающейся повышением количества моноцитов крови, что было выявлено в группе Iso через 2 недели после инъекции, в свою очередь вывешивание привело к снижению количества моноцитов крови. В группе крыс АОВ+Iso наблюдали лишь тенденцию к такому изменению (рисунок 98).

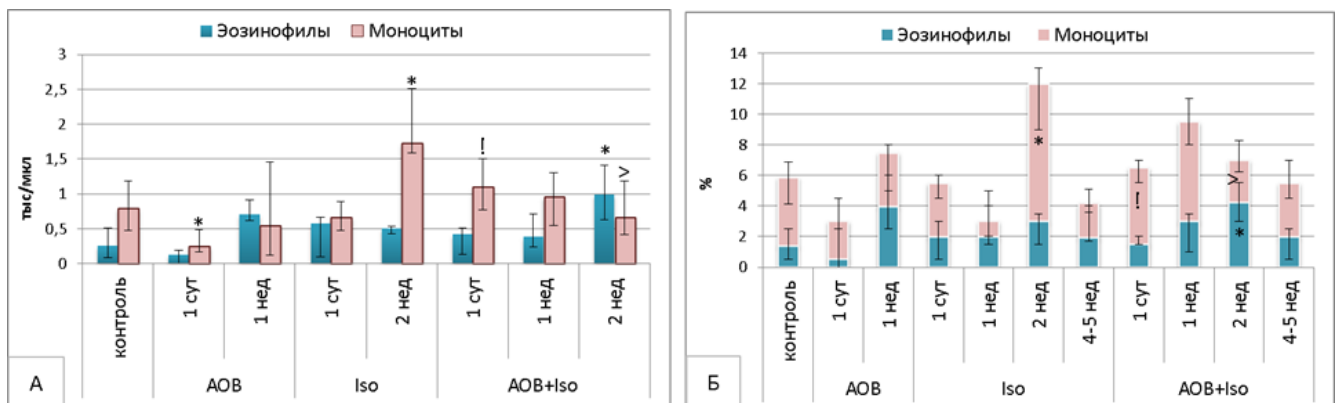


Рисунок 98. Количество эозинофилов и моноцитов в крови крыс. А – абсолютное количество клеток в 1 мкл крови. Б – процентное содержание клеток. Где * – сравнение с контролем, ! –

сравнение с группой АОВ, > – сравнение с группой Iso, $p < 0,05$, критерий множественных сравнений Z.

Полученные изменения в содержание клеток крови в кратчайшие сроки после АОВ (лейкопения, уменьшения количества лимфоцитов и моноцитов) можно связать со снижением иммунологической реактивности организма крыс под воздействием факторов моделируемой микрогравитации. В группе Iso наблюдали изменения картины крови (тенденция к нейтрофилезу, лимфопении и повышение содержания моноцитов в крови), характерное для воспалительного процесса, сопровождавшего развитие ИМ. В группе крыс после вывешивания с последующим развитием экспериментального ИМ наблюдали изменения, характерные и при действии моделируемой микрогравитации – уменьшение количества лимфоцитов, и при развитии изопротеренол-индуцированного ИМ – нейтрофилез и тенденцию к увеличению количества моноцитов крови.

Изменения в субфракционном составе сыворотки крови.

Изменения сывороточного гомеостаза после 3-х видов воздействий представлены на рис. 99. Вывешивание изменило процентный вклад в светорассеивание частиц разного размера, а значит и количество этих молекул в сыворотке крови. В первую очередь, можно отметить увеличение количества частиц малого (8-11 нм) и большого гидродинамического радиуса (165-225 нм). После индукции инфаркта изопротеренолом в сыворотке крови ещё больше увеличивалось количество частиц малого радиуса (1,9-15,3 нм) и это в большей степени выражено в группе с виварийным инфарктом миокарда (рисунок 99 А).

Через 1 неделю в группе АОВ сдвиг субфракционного состава крови в сторону нарастания процента крупных частиц (122-300) увеличивался; в группе Iso – зафиксировали увеличение частиц еще большего гидродинамического радиуса (300-545); для группы АОВ+Iso характерно увеличение процентного содержания частиц среднего и крупного размера в районе 67-165 нм по сравнению с другими группами (рисунок 99 Б).

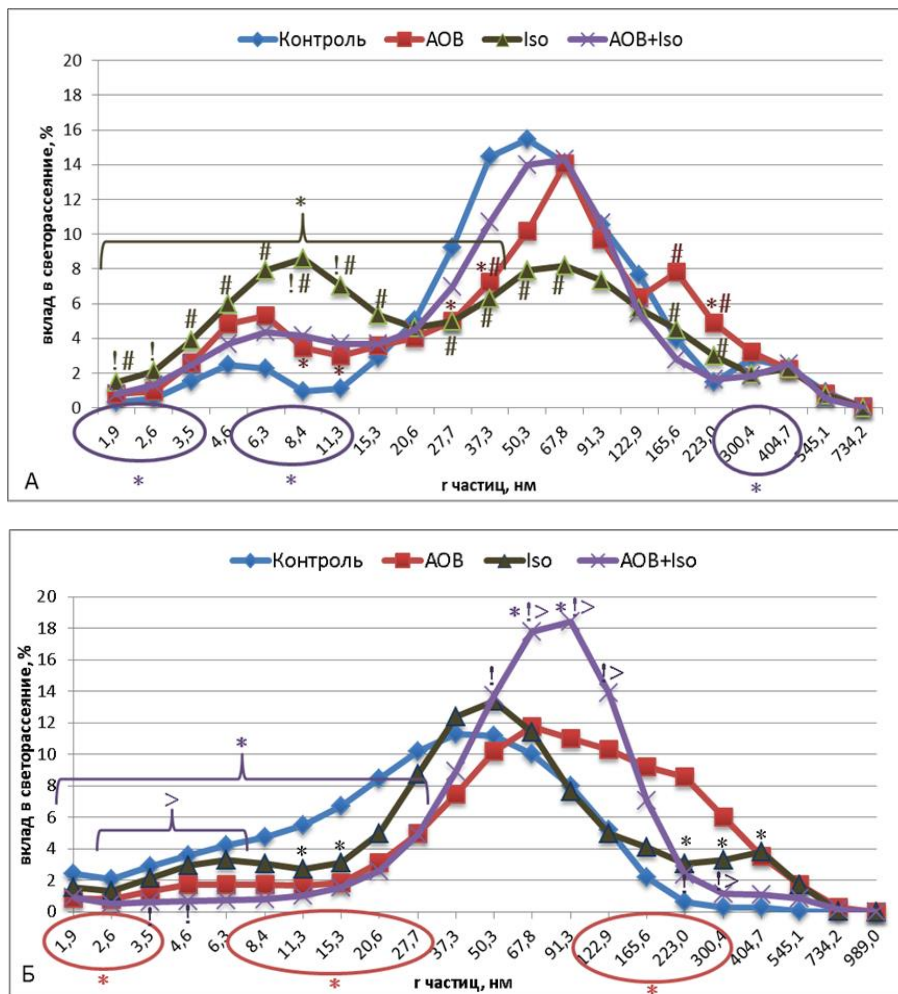


Рисунок 99. Распределение частиц сыворотки крови крыс после окончания воздействий. А – в течение суток после воздействия. Б – через 1 неделю. Где * – сравнение с группой контроль, ! – сравнение с АОВ, > – сравнение с группой Iso, # – сравнение с группой АОВ+Iso, $p < 0,05$, критерий множественных сравнений Z.

Через 2 недели после окончания АОВ (рисунок 100 А) сдвиг в сторону частиц среднего гидродинамического радиуса (57-91нм) был более выражен, чем в предыдущих точках измерения. После введения изопротеренола наблюдали разнонаправленные сдвиги сывороточного гомеостаза в течение эксперимента, однако через 5 недель субфракционный состав сыворотки крови не отличался от контрольных значений (рисунок 100 Б). В группе АОВ+Iso наблюдали слабую тенденцию к повышению процентного вклада в светорассеяние частиц крупного гидродинамического радиуса (рисунок 100 В).

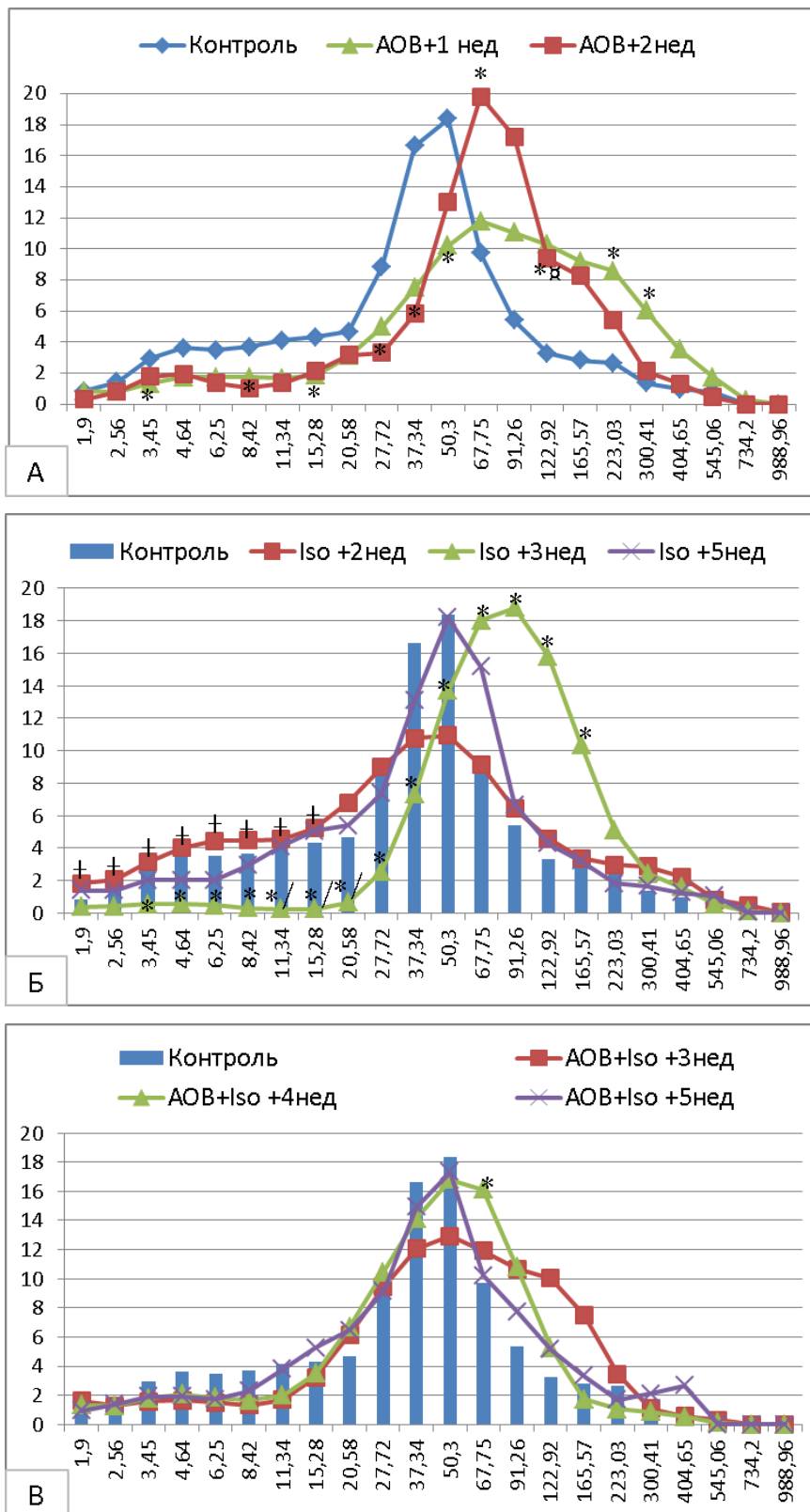


Рисунок 100. Динамика распределение частиц сыворотки крови крыс. По оси абсцисс – процентный вклад в светорассеяние, по оси ординат – радиус частиц, нм. А – группа АОВ. Б – группа Iso. В – группа АОВ+Iso. Где * – сравнение с группой контроль, □ – сравнение с первой неделей, + – сравнение с 3-ей неделей, / – сравнение с 5-ой неделей, $p < 0,05$, критерий множественный сравнений Z.

Таким образом, введение изопротеренола привело к увеличению относительного содержания низкомолекулярных частиц в течение первых 2 недель развития ИМ, далее происходил сдвиг сывороточного гомеостаза в сторону накопления высокомолекулярных частиц с нормализацией к 5 неделе. После вывешивания наблюдали стойкое повышение процентного вклада высокомолекулярных частиц сыворотки крови. Эффекты последовательного воздействия вывешивания и изопротеренола на сывороточный гомеостаз вызвали характерное только для этой группы увеличение процентного содержания частиц среднего размера. Отдаленные эффекты действия АОВ и изопротеренола были менее выраженными, чем их раздельное действие, что может быть связано с разнонаправленным воздействием АОВ и изопротеренола на состояние сывороточного гомеостаза.

Индекс массы сердца.

В группе после антиортостатического вывешивания достоверных изменений индекса массы сердца не наблюдали, введение изопротеренола увеличило этот показатель. В группе АОВ+Iso увеличение массового индекса миокарда регистрировали в более поздний срок, чем в других группах – через 1 неделю (рисунок 101). В дальнейшем, в течение эксперимента, индекс массы сердца не имел достоверных отличий между группами.

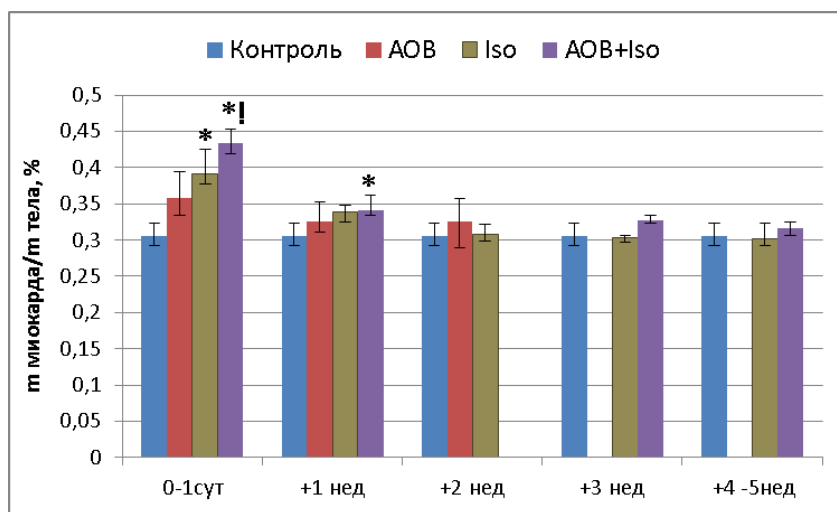


Рисунок 101. Изменение массы миокарда по отношению к массе тела, %. Где * – сравнение с группой контроль, ! – сравнение с группой АОВ, $p < 0,05$, критерий множественный сравнений Z.

Исследование действия моделированной микрогравитации (АОВ) на развитие экспериментального очагово-диффузного инфаркта миокарда выявило, обратимое снижение массы тела крыс под действием, как изолированного вывешивания, так и вывешивания в сочетании с введением изопротеренола, при этом восстановление массы тела при сочетании АОВ и инфаркта миокарда было существенно более отсроченным. Воздействие АОВ и изопротеренола на состав сыворотки крови, определяемый методом ЛКС, различаются только на малых сроках от воздействия и через некоторое время нивелируются. Анализ клеточного состава крови группы АОВ+Iso показал, что в группе с ИМ, которому предшествовало вывешивание, сохранены характерные черты изменений количества клеток крови как животных после АОВ, так и животных с изопротеренол-индуцированным ИМ без вывешивания. На ЭКГ выявлены статистически значимые изменения амплитуды зубцов Р и R, а также продолжительность интервалов PQ и QTс, а также значения ЧСС. Введение изопротеренола отразилось статистически значимыми изменениями индекса массы сердца как у животных в виварии, так и после вывешивания. При этом при сочетании АОВ и изопротеренола изменения индекса массы сердца сохранялись в течение недели.

7.4 Исследование влияния эффектов моделированной микрогравитации на развитие инфаркта/ишемического повреждения миокарда на значительных сроках после вывешивания.

Работа выполнена на 98 крысах-самцах группы Wistar, масса 263 ± 20 г ($M \pm SD$), возраст 3-4 месяца. Животные были разделены на 4 группы:

Группа Контроль, $n=33$ – интактная группа крыс.

Группа АОВ, $n=21$ – группа, подвергшаяся двухнедельному антиортостатическому вывешиванию (АОВ).

Группа Изопротеренол-20 (Изо), $n=10$ – группа с изопротеренол-индуцированным инфарктом миокарда (ИМ);

дополнительная группа Изопротеренол - 80, $n=7$ – моделирование диффузно-очагового ИМ.

Группа АОВ+Изопротеренол-20, n=9 – моделирование отсроченного ИМ через 4 месяца после двухнедельного антиортостатического вывешивания;

дополнительная группа АОВ+Изопротеренол-80, n=18 – моделирование ИМ через 6 месяцев после имитации микрогравитации.

Длительность эксперимента составила 8,5 месяцев. В начале эксперимента моделировали действие микрогравитации, а через 4 месяца после этого моделировали изопротеренол-индуцированный ИМ, отслеживали особенности его развития, течения и отсроченных последствий в течение 4-х месяцев (таблица 23).

Таблица 23. Дизайн эксперимента.

Нед. эксперимента	Контроль	АОВ	Изопротеренол (Изо)	АОВ+ Изо
0 нед		АОВ		АОВ
1 нед				
2 нед				
3 нед	1 нед			
4 нед	2 нед			
5 нед	3 нед			
6 нед	4 нед			
10 нед	2 мес			
14 нед	3 мес			
18 нед	4 мес	введение Изопротеренола x2		
19 нед	+1 нед	+1 нед		
20 нед	+2 нед	+2 нед		
21 нед	+3 нед	+3 нед		
22 нед	5 мес (+4 нед от введения)	+4 нед		
26 нед	6 мес (+2 мес от введения)	+ 2 мес		
	забой части животных			
30 нед	7 мес (+3 мес от введения)	+3 мес		
34 нед	8 мес (+4 мес от введения)	+4 мес		
	забой части животных	забой		

Исходно планировали введение стандартной дозы 80 мг/кг изопротеренола через 6 месяцев после АОВ, однако, все животные группы АОВ+Изопротеренол_80 погибли после первой инъекции, поэтому была создана группа с введением 20 мг/кг изопротеренола через 4 месяца после вывешивания. При введении 20 мг/кг

наблюдали гибель 78% животных (Рисунок 102), причем процент смертности не отличался от группы Изопротеренол в соответствующей дозе (группа Изо_20).

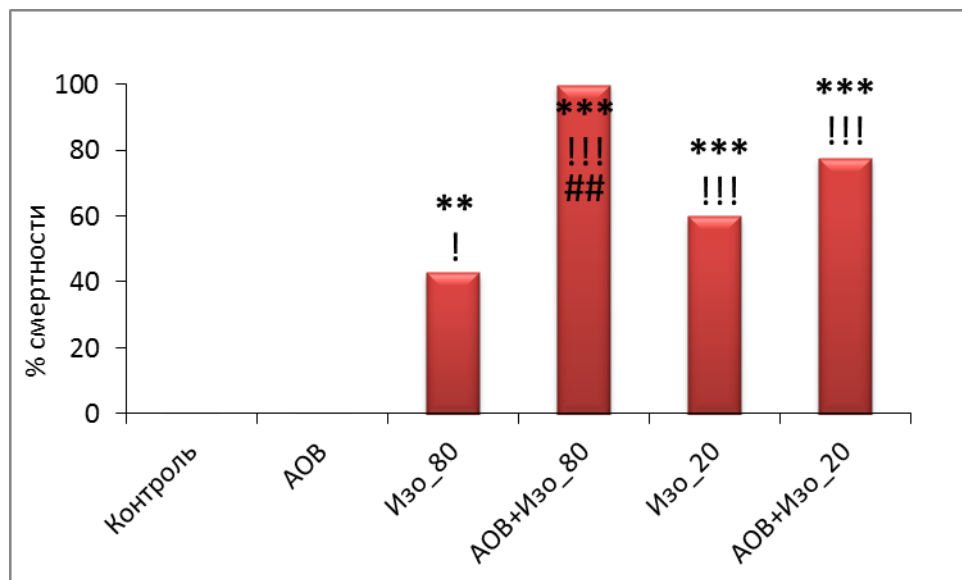


Рисунок 102. Смертность крыс после введения изопротеренола в двух дозах (%), *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$ - отличие от группы Контроль, !!! $p < 0,001$, ! $p < 0,05$ - отличие от группы АОВ, ## $p < 0,01$ - отличие от группы Изопротеренол, критерий Z'.

При введении изопротеренола в дозе 80 мг/кг животные группы АОВ+Изопротеренол_80 погибали вследствие острой сердечной и дыхательной недостаточности. Кардиотоксический эффект β -адреномиметика был более выражен у данной группы животных, подвергшихся влиянию микрогравитации за полгода до моделирования ИМ. Это может быть связано с морфологическими изменениями ткани миокарда [204, 205] после имитации действия микрогравитации, с нарушением кальциевого баланса [206], с последствием дисбаланса систем перекисного окисления липидов, и усугублением ситуации возрастными изменениями кардиомиоцитов (возраст крыс 9-10мес) – все это могло привести к повышению чувствительности β -адренорецепторов миокарда к действию катехоламинов. При введении изопротеренола в меньшей дозе (20 мг/кг) и через 4 месяца после окончания антиортостатического вывешивания более молодым животным (7 мес.) – часть крыс выжила.

Изменение массы тела крыс.

На рисунке 2 представлено изменение массы тела крыс экспериментальных групп в течение месяца после моделирования изопротеренол-индуцированного ИМ (рисунок 103 А) и в течение всего эксперимента (рисунок 103Б). Наибольшее влияние на массу тела оказало антиортостатическое вывешивание (группы АОВ и АОВ+Изопротеренол), восстановление после которого происходило в течение первого месяца наблюдения. Снижение массы фиксируют после КП [31], при моделировании эффектов микрогравитации как у людей [32], так и у лабораторных животных [33], и связывают с потерей костной, мышечной, жировой массы, отрицательным водным балансом, изменением метаболизма. Развитие отсроченного экспериментального ИМ на изменение массы тела животных значимо не оказало влияния, приводя к непродолжительному снижению массы тела крыс.

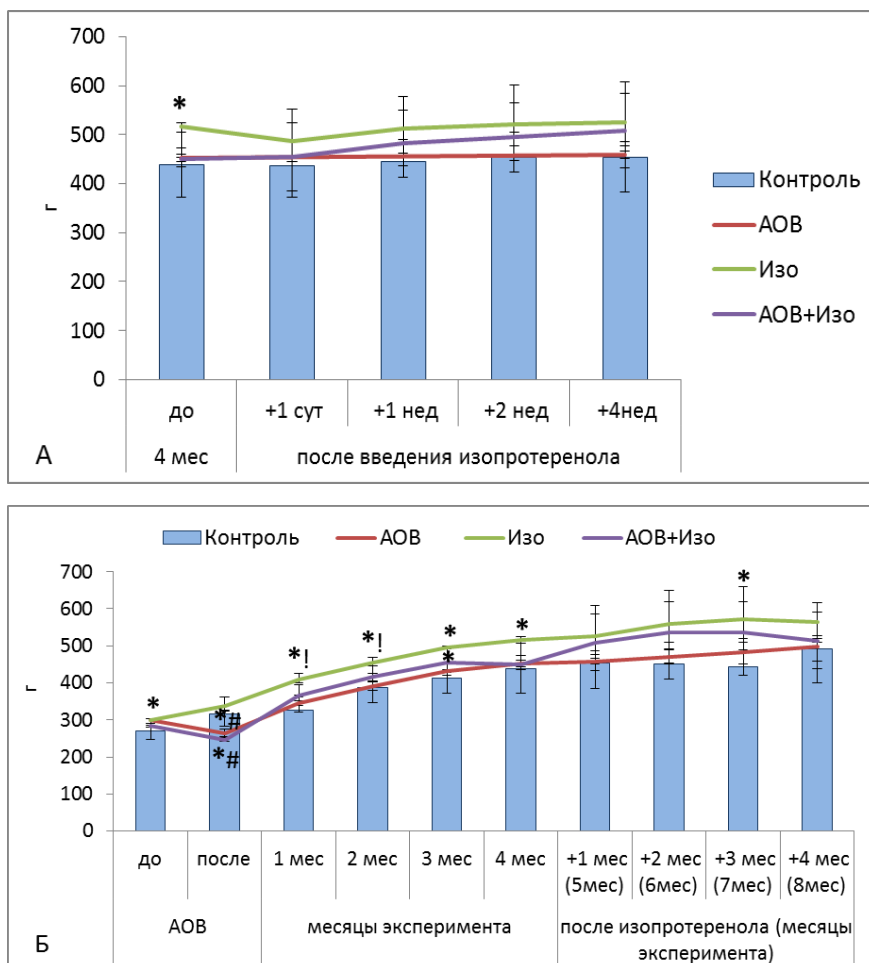
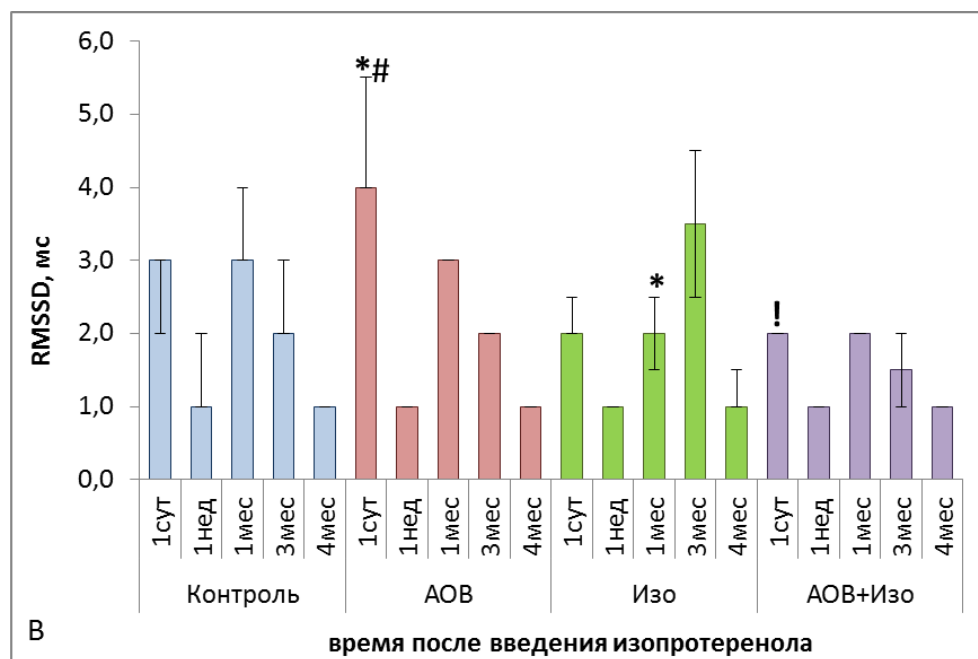
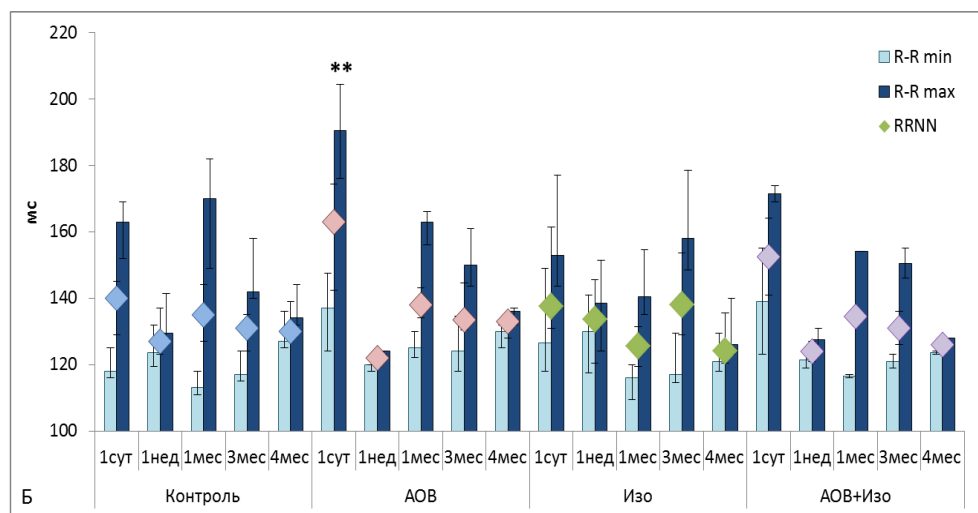
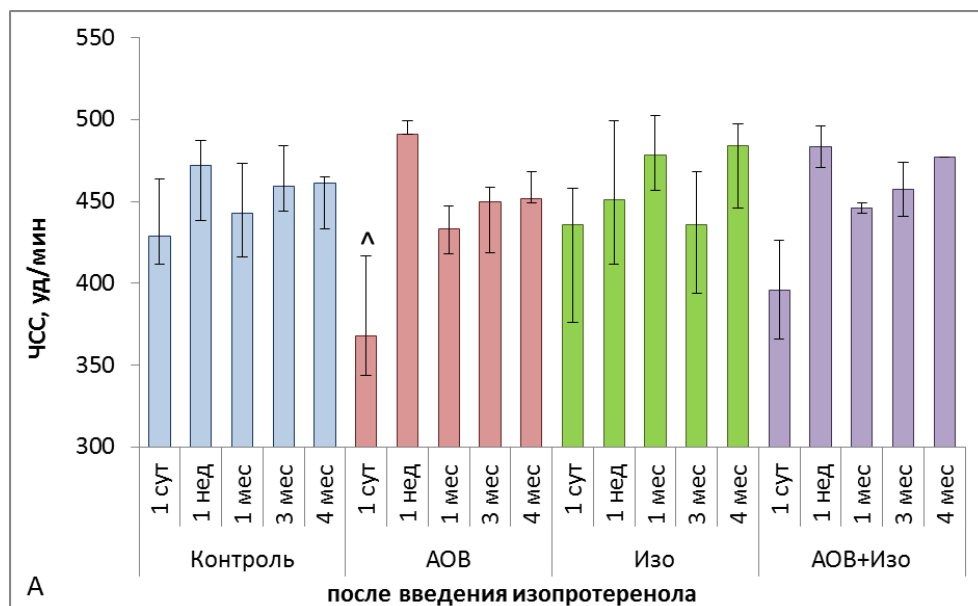


Рисунок 103. Изменение массы тела лабораторных животных. А – в течение первого месяца после моделирования ИМ. Б – в течение всего времени наблюдения. Где * $p < 0,05$ – сравнение с группой Контроль, # $p < 0,05$ – сравнение с группой Изо, ! $p < 0,05$ – сравнение с группой АОВ, критерий Z'.

ЭКГ

В группах АОВ наблюдали тенденцию к снижению ЧСС (рисунок 104 А) на следующие сутки после моделирования ИМ, а также увеличение границы максимального значения RR-интервалов (рисунок 104 Б). В группе Изопротеренол такого изменения выявлено не было. Можно предположить, что на снижение ЧСС повлияли долгосрочные последствия антиортостатического вывешивания, возможно, связанные с усилением парасимпатических влияний (увеличение RMSSD в группе АОВ) (рисунок 104 В). Через месяц после развития отсроченного изопротеренол-индуцированного ИМ наблюдали снижение данного показателя в группах Изопротеренол и АОВ+Изопротеренол с продолжением данной тенденции в группе АОВ+Изопротеренол и через 3 месяца. Показатель CV,% – коэффициент вариации, отражающий суммарный уровень вегетативной регуляции сердечного ритма с учётом ЧСС снижался в группе АОВ через 1 неделю и в группе Изопротеренол через 1 месяц после введения β -адреномиметика.



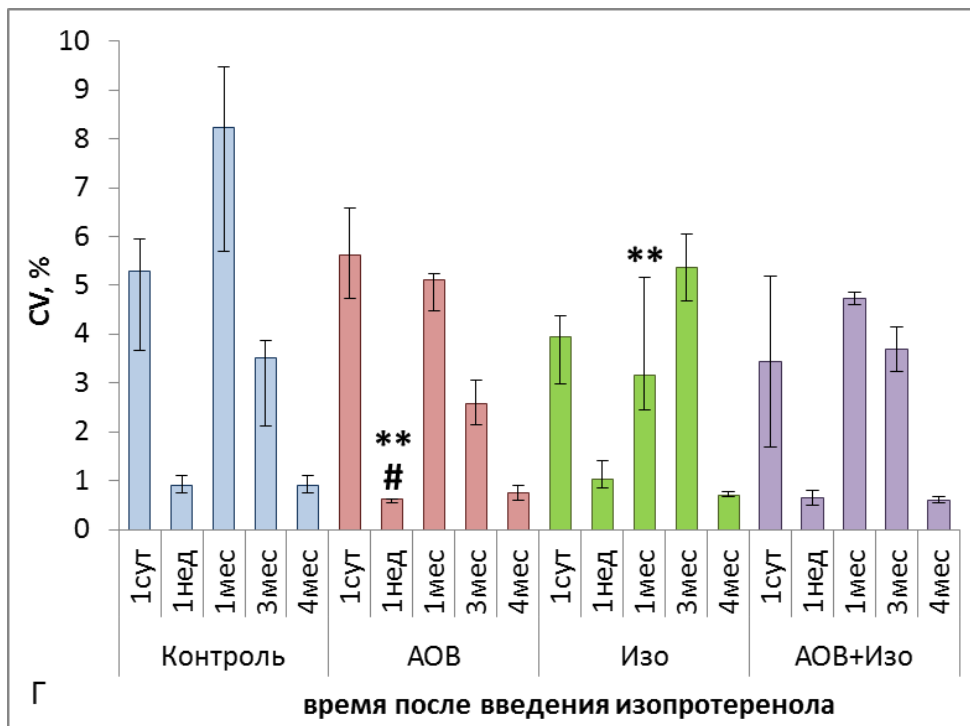


Рисунок 104. Изменение ЧСС и показателей описательной статистики ВСР (Через 1 сутки, 1, 3 месяцев регистрировали ЭКГ без наркотизации животных, через 1 неделю и 4 месяца – с применением наркоза) А – ЧСС. Б – средний RR-интервал, его минимум и максимум. В – Показатель RMSSD. Г – коэффициент вариации CV,%. ^ $p=0,08$, * $p<0,05$, ** $p<0,01$ - отличие от группы Контроль, # $p<0,05$ - отличие от группы Изо, ! $p<0,05$ - отличие от группы АОВ, критерий Z'.

Кроме того, в первые сутки была повышена ТР-общая спектральная мощность variability сердечного ритма и все спектральные показатели в группе АОВ (рисунок 105 А). Снижение спектральных показателей, а также снижение коэффициента вариации через неделю в группах с отсроченными эффектами моделируемой микрогравитации, достигающих достоверных отличий в группе АОВ (рисунок 105 Б), вероятно, можно объяснить повышенной чувствительностью к действию наркоза после перенесенной микрогравитации. Это подтверждается также преобладанием парасимпатических влияний на сердечный ритм в первую неделю в данной группе (рисунок 105 Е). В группе Изопротеренол через сутки (рисунок 105 А) и значимо через 1 месяц (рисунок 105 В) после моделирования ИМ наблюдали снижение ТР. Детальный спектральный анализ показал, что такое снижение обусловлено уменьшением вклада в общую мощность всех исследованных диапазонов частот VLF, LF, и HF в абсолютных величинах.

Этот факт, вместе с изменением показателя RMSSD и коэффициента вариации ВСР, может отражать вегетативные нарушения, вследствие изменения интракардиальных процессов и/или снижением вагусных влияний, что подтверждаются изменениями спектральных показателей ВСР (рисунок 105 В).

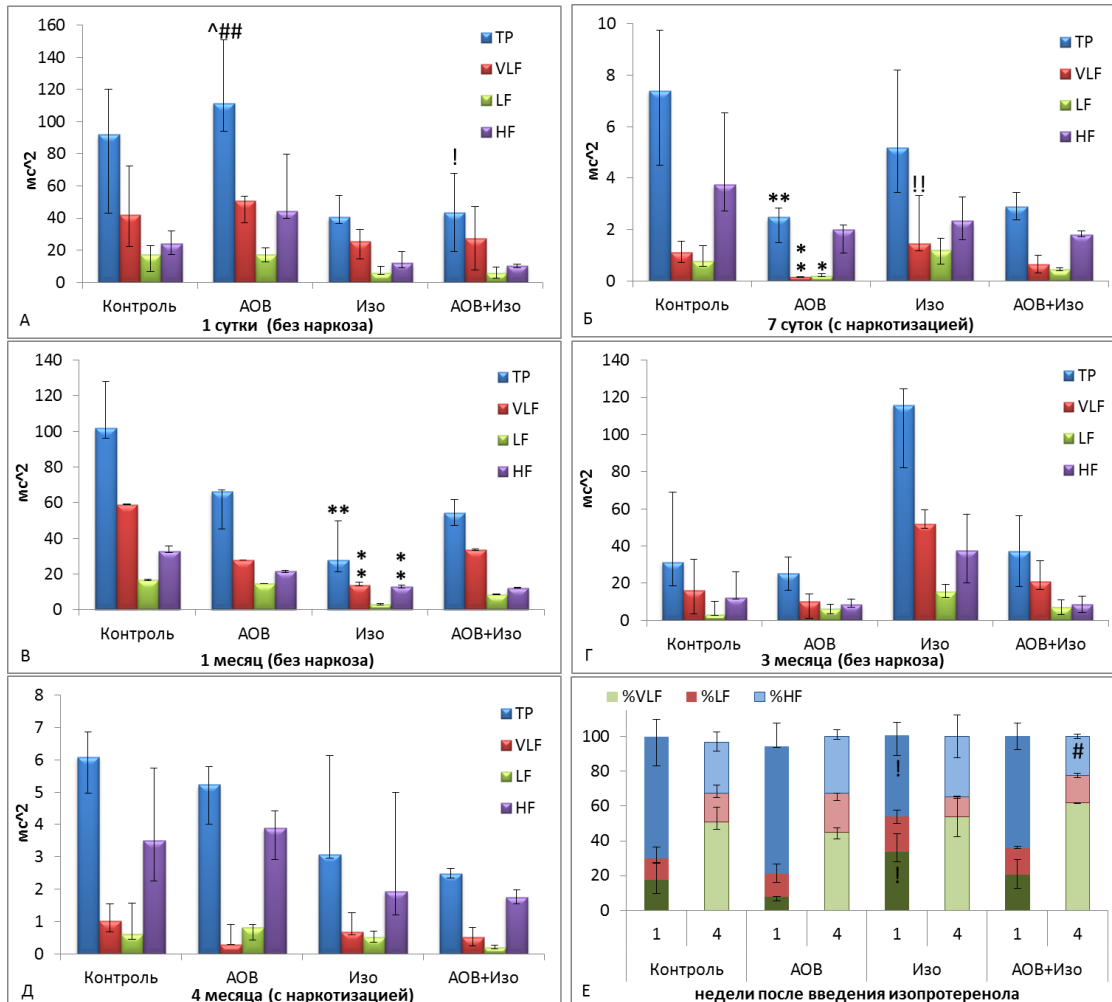


Рисунок 105. Изменение спектральных характеристик ВСР (Через 1 сутки, 1, 3 месяцев регистрировали ЭКГ без наркотизации животных, через 1 неделю и 4 месяца – с применением наркоза). А – через 1 сутки. Б – через 7 суток. В – через 1 месяц. Г – через 3 месяца. Д – через 4 месяца. Е – относительная мощность спектра в проценте от суммарной мощности колебаний. ^ $p=0,061$, * $p<0,05$, ** $p<0,01$ - отличие от группы Контроль, # $p<0,05$, ## $p<0,01$ - отличие от группы Изо, ! $p<0,05$ - отличие от группы АОВ, критерий Z'.

Таким образом, вегетативные нарушения у бодрствующих экспериментальных животных через месяц после введения изопроterenола были представлены в виде значительного снижения общего уровня автономной

регуляции сердечного ритма. При этом показатель вегетативного баланса и нормализованные показатели симпатических и парасимпатических влияний на сердечный ритм не отличались между собой в разных группах.

Изменения PQRST-комплекса

Через 1 неделю после моделирования ИМ было выявлено снижение амплитуды зубца R в I стандартном отведении в группе с введением изопротеренола (рисунок 106 А), значимо отличающееся в группе АОВ+Изопротеренол от группы АОВ, и увеличение длительности интервала PQ в группе Изопротеренол по сравнению с АОВ+Изопротеренол (рисунок 106 Б). Снижение амплитуды зубца R, как и увеличение длительности интервала PQ являются характерными особенностями экспериментального ИМ, возникающими при диффузных поражениях миокарда, связанных с развитием ишемического повреждения ткани и нарушением атриовентрикулярной проводимости. Через 4 месяца значимых изменений амплитудно-временных характеристик PQRST-комплекса не выявлено.

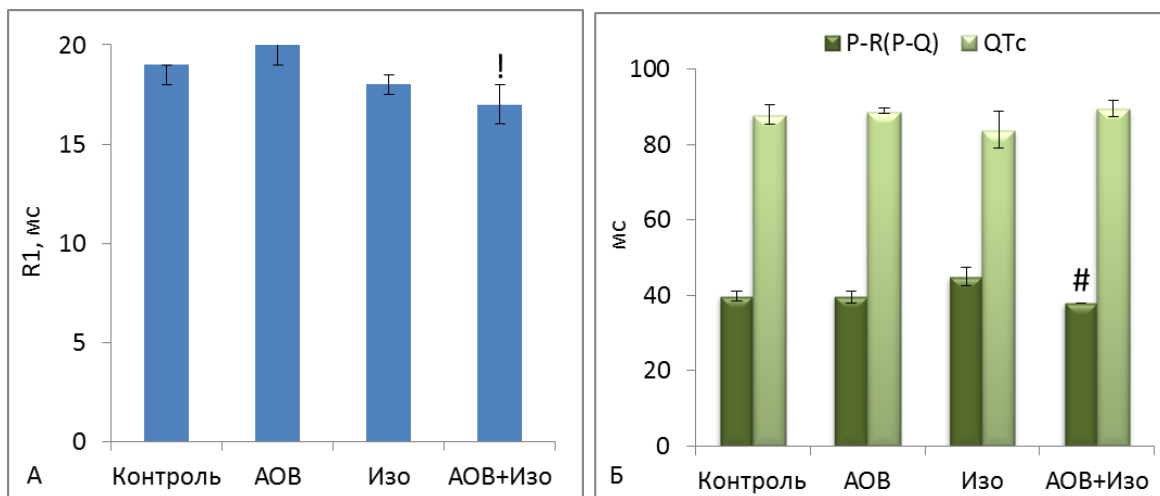


Рисунок 106. Изменения PQRST комплекса через 1 неделю. А – изменение амплитуды R1-зубца. Б – длительность интервалов PQ и QTc. ! $p < 0,05$ – сравнение с группой АОВ, # $p < 0,05$ – сравнение с группой Изо, критерий Z'.

Высокий процент аритмий (таблица 24) выявили в группе АОВ+Изопротеренол, в группе Изопротеренол без имитации действия микрогравитации также наблюдали большое число нарушений ритма различного

генеза. Наличие отрицательного патологического зубца Q было высоким в обеих группах с моделированием ИМ, и составлял по 50 %.

Таблица 24. Встречаемость аритмий и патологического зубца Q

Группы Время после ИМ	Контроль	АОВ	Изо	АОВ+Изо
	аритмии, %			
1 сут	6	11	25	50
1 нед	0	25	33	0
1 мес	0	0	25	50
3 мес	0	0	50	50
4 мес	0	25	100*	100
Q, %				
1 нед	0	0	50*	50
4 мес	0	0	50	50

* $p < 0,05$ – сравнение с группой Контроль, критерий F

Клинический анализ крови.

Значимых различий в абсолютном количестве лейкоцитов крови через 2 недели после индукции ИМ обнаружено не было (рисунок 107 А,Б). Отсроченный изопротеренол-индуцированный ИМ, которому предшествовало двухнедельное антиортостатическое вывешивание, в большей степени влияет на лейкоцитарную формулу крови, вызывая относительные нейтропению и лимфоцитоз (рисунок 107 В).

В группе АОВ+Изопротеренол выявлены изменения некоторых показателей, характеризующие состояние эритроцитов крови. Обнаружено небольшое увеличение ширины распределения эритроцитов (показатель RDW-CV), обозначающее, насколько размер эритроцитов отличается от среднего значения в образце крови (рисунок 108 А). Концентрация гемоглобина в эритроцитах (МСНС-индекс) была выше, чем в группе с ИМ (рисунок 108 Б). Увеличение данных показателей может служить признаком повышения вязкости крови, развития анемии и некоторых других патологических состояний, однако, без изменения других параметров клеточного состава крови (эритроцитарных и лейкоцитарных), это изменение, скорее всего, можно отнести к физиологическому отклонению.

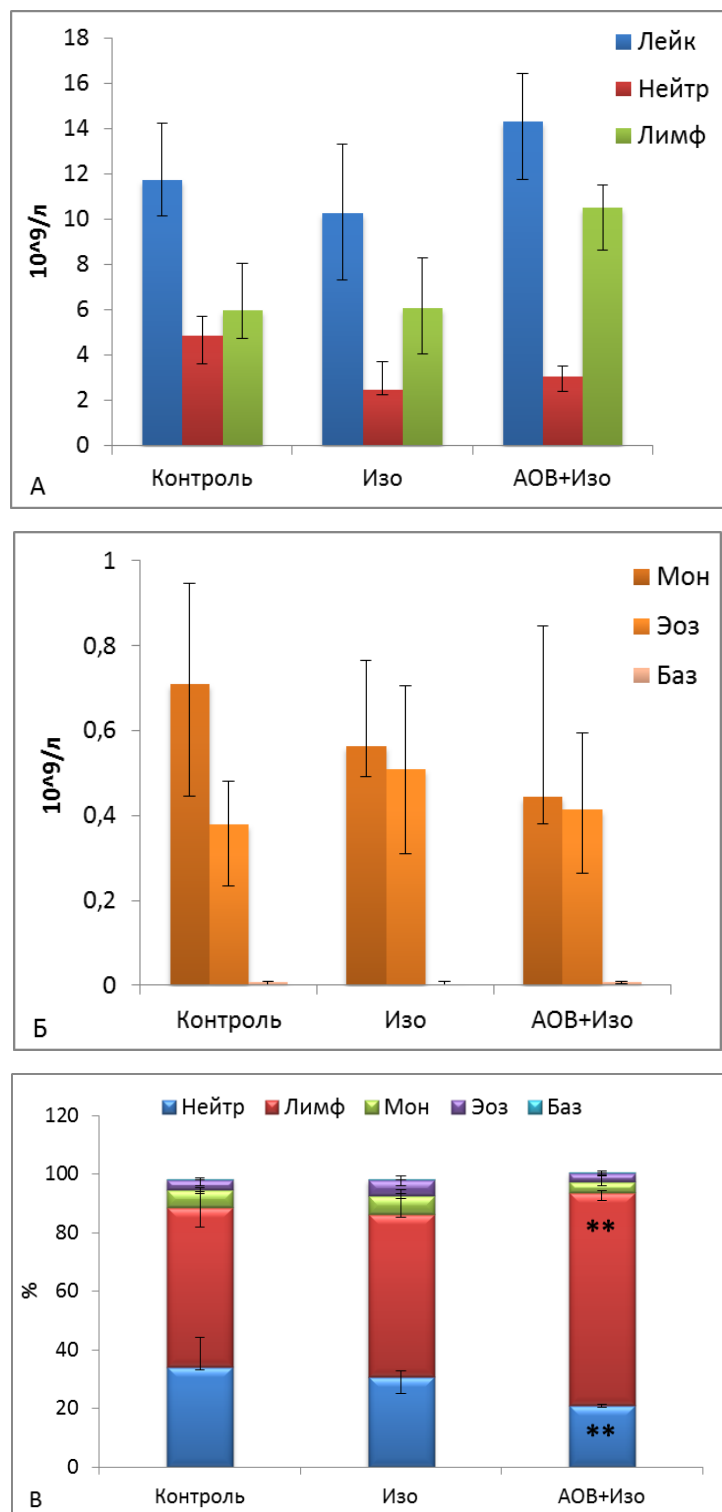


Рисунок 107. Количество лейкоцитов крови через 2 недели после индукции ИМ. А – содержание общего количества лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов в 1 л крови. Б – количество моноцитов, эозинофилов, моноцитов в 1 л крови. В – лейкоцитарная формула крови. ** $p < 0,01$ – по сравнению с группой Контроль, критерий Z'.

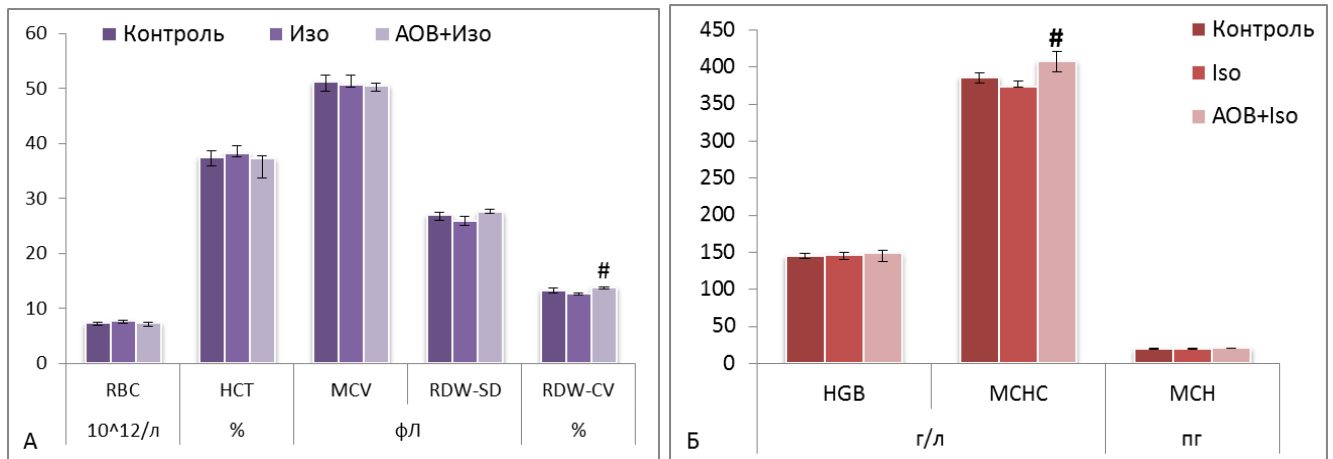


Рисунок 108. Изменение эритроцитарных показателей через 2 недели после ИМ.

$p < 0,05$ – по сравнению с группой Изопротеренол, критерий Z'.

Через 4 месяца наблюдали противоположные изменения в количестве клеток крови в группах АОВ и АОВ+Изопротеренол, достигающие уровня статистической значимости только по сравнению друг с другом (рисунок 109 А). В группе АОВ произошло снижение общего количества лейкоцитов за счет нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов, а в группе АОВ+Изопротеренол, наоборот, повышение содержания данных клеток. В процентном соотношении различного пула лейкоцитов значимых различий обнаружено не было (рисунок 109 Б), однако на уровне тенденции, можно говорить об относительных лимфопении и нейтрофилизе в опытных группах. Снижение уровня лейкоцитов может быть признаком угнетения кроветворения и истощения организма, а их увеличение – характерно для воспаления.

Через 4 месяца после индукции ИМ в группе АОВ+Изопротеренол фиксировали эритроцитоз: повышение количества эритроцитов, содержания гемоглобина и гематокрита, достигающие уровня статистической значимости в сравнении с группой АОВ (рисунок 110). Данные изменения могут быть признаками увеличения вязкости крови, что повышает риск развития тромбоза. Зарегистрированные изменения эритроцитарных показателей могут быть следствием долгосрочной активации адаптационно-компенсаторных реакций организма в ответ на сочетанное влияние внешних и внутренних факторов.

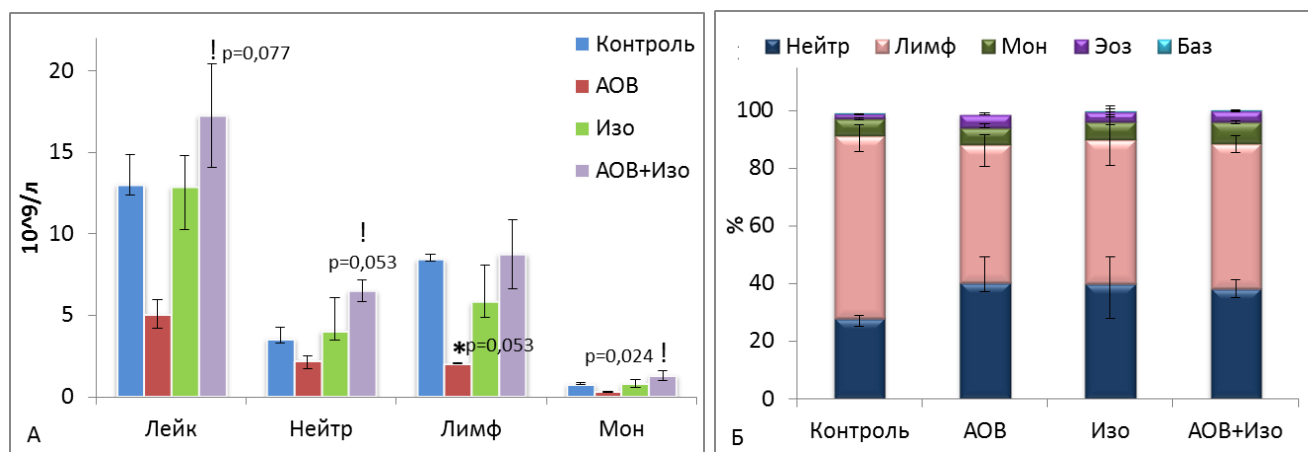


Рисунок 109. Количество лейкоцитов крови через 4 месяца после индукции ИМ. А – содержание общего количества лейкоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов в 1 л крови. Б – лейкоцитарная формула крови. * $p < 0,1$ – по сравнению с группой Контроль, ! $p < 0,1$ – по сравнению с группой АОВ, критерий Z'.

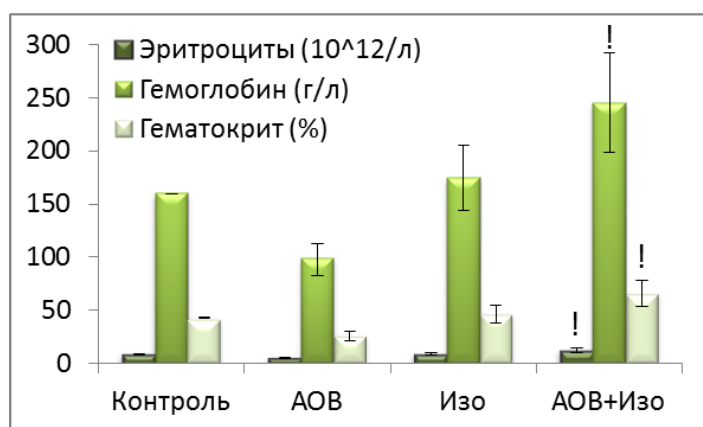


Рисунок 110. Изменение эритроцитарных показателей через 4 месяца после ИМ. ! $p < 0,05$ – по сравнению с группой АОВ, критерий Z'.

Изменения в субфракционном составе сыворотки крови.

Развитие ИМ активирует каскады патологически направленных биохимических, биофизических и иммунных реакций, приводящих к воспалительным, дистрофическим, катаболическим и некротическим процессам. Введение изопротеренола в дозах 20 мг/кг повлияло на субфракционный состав сыворотки крови и вызвало увеличение процентного вклада в светорассеяние частиц радиусом около 67-122 нм (рисунок 111 А) через 2 недели. Метаболический сдвиг в сторону преобладания процента частиц такого размера может быть следствием выхода в кровь РНП- и ДНП-частиц в результате деструкции клеток, а

также накопление липопротеиновых комплексов. Через 4 месяца (рисунок 111 Б) выявленный сдвиг сохранен в группе АОВ+Изопротеренол и ту же тенденцию наблюдали и в группе после антиортостатического вывешивания. В клинических исследованиях показано, что гомеостатический сдвиг в составе сыворотки крови в сторону увеличения частиц с гидродинамическим радиусом в области 70-150 фиксируют у пациентов, перенесшим ИМ без осложнений [207]. В группе крыс с экспериментальным ИМ обнаружили незначительное повышение частиц малого гидродинамического радиуса (4-8 нм) по сравнению с другими группами.

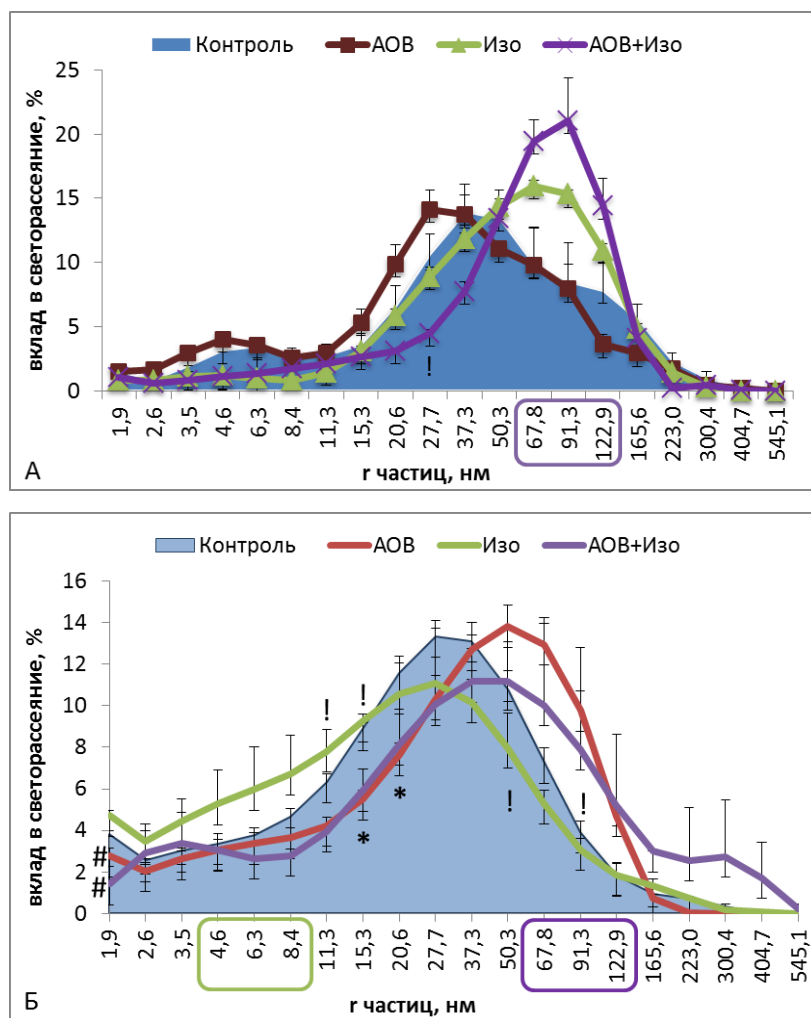


Рисунок 111. Изменения субфракционного состава сыворотки крови. А – через 2 недели после ИМ. Б – через 4 месяца после ИМ. * $p < 0,05$ - отличие от группы Контроль, ! $p < 0,05$ - отличие от группы АОВ, # $p < 0,05$ - отличие от группы Изопротеренол, критерий Z'.

Таким образом, по результатам экспериментальной работы с моделированием инфаркта миокарда у крыс после воздействия модели микрогравитации можно отметить ряд особенностей.

В первую очередь, при анализе воздействия на сердечно-сосудистую систему крысы АОВ были выявлены изменения на ЭКГ, выразившиеся в снижении амплитуды зубца R и его расщеплении, укорочении интервала PQ и удлинение интервала QT. Находясь в пределах физиологической нормы для крыс, эти изменения могут свидетельствовать о повышении риска аритмий и замедлении проведения в миокарде левого желудочка. Некоторые обратимые изменения, укладывающиеся в нормативы, отмечены при Эхо-КГ: после воздействия микрогравитации снижается фракция выброса и увеличивается конечный систолический размер левого желудочка. В анализе крови, ожидаемо снижается количество лейкоцитов и лимфоцитов, но эти изменения, также носят обратимый характер.

При выборе модели острого инфаркта миокарда начали исследования с классической модели коронарной окклюзии. У всех экспериментальных животных получен острый инфаркт миокарда с выраженными изменениями на ЭКГ: подъём сегмента ST, снижение амплитуды зубца R, появление патологического зубца Q. Данные ЭКГ подкреплялись существенным подъёмом биохимических показателей крови (рост ЛДГ в 3 раза, существенное увеличение Na-уретического пептида. Морфологическая картина, также соответствовала обширному повреждению ткани миокарда с некрозом, лейкоцитарной инфильтрацией и появлением в зоне некроза соединительной ткани. Однако, существенным минусом этой модели стала высокая смертность животных в течении первых суток после операции, что серьезно затрудняло сбор экспериментальных данных.

Поэтому было принято решение проверить возможность использования в наших исследованиях модели инфаркта с введением изопротеренола. Этот метод широко используется для моделирования ишемического поражения миокарда, миокардита, сердечной недостаточности. Полученные результаты несколько отличались от картины при оперативной коронарной окклюзии. В первую очередь,

надо отметить отсутствие четкой зоны некроза мышечной ткани. Морфологические изменения выражались в некрозах отдельных кардиомиоцитов, гипертрофии и дистрофии мышечных волокон, выраженной лейкоцитарной инфильтрации. ЭКГ-картина характеризовалась укорочением интервала RQ и снижением сегмента ST ниже изолинии. В анализе крови отмечено повышение кардиоспецифического фермента – тропонина-I у 50% животных.

Учитывая гораздо лучшую выживаемость животных при изопротереноловой модели, было принято решение о её дальнейшем использовании в нашей работе.

Инфаркт миокарда мы моделировали непосредственно после воздействия АОВ и в отсроченном периоде. Обобщая результаты, можно обратить внимание на следующие особенности развития патологического процесса:

1. Сочетание вывешивания и инфаркта миокарда существенно замедляет восстановление животных после «невесомости», что проявляется значимым замедлением набора массы тела. Животные, перенесшие инфаркт после АОВ, не восстанавливали массу тела даже через 5 недель после вывешивания.
2. По данным ЭКГ, ведущим признаком ишемии стало удлинение комплекса QRS и интервала QT. Снижения амплитуды зубца R в группе с моделированием инфаркта после воздействия АОВ не отмечено. При моделировании инфаркта в отсроченном порядке отмечено значимое снижение амплитуды зубца R, но только через неделю.
3. В целом частота аритмий и появление патологического зубца Q имеет тенденцию к повышению в группе с моделированием инфаркта после АОВ.
4. В анализе крови при инфаркте на фоне АОВ значимо выше были проявления воспалительной реакции, выразившиеся в лейкоцитозе с повышения количества палочкоядерных нейтрофилов. Это происходило на фоне лимфопении спровоцированной АОВ.
5. В сывороточном составе белков крови, по методу ЛКС, преобладало повышенное содержание частиц среднего размера (50-150 нм) через 7-14

дней после индукции инфаркта как непосредственно после вывешивания, так и в отсроченном периоде. В отличие от АОВ, когда преобладали частицы большого диаметра, и «чистого» инфаркта с большей долей частиц малого диаметра.

6. Моделирование инфаркта через 4 месяца после вывешивания потребовало коррекции первоначальной схемы введения изопротеренола из-за 100% смертности экспериментальных животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема болезни в космосе, в настоящее время, приобретает всё большую актуальность. Развитие пилотируемой космонавтики, расширение границ присутствия человека в космосе, новые цели и задачи определяют новые требования к космонавтам. На первый план выходит квалификация участников космических полетов, их опыт, знания и навыки. Всё это требует длительного обучения и подготовки. Это приводит к тому, что средний возраст космонавтов в отряде растёт и прямо пропорционально растёт количество «особенностей в состоянии здоровья».

Кроме того, за прошедшие 60 лет, развитие системы медицинского обеспечения космических полетов сделало возможным полеты с продолжительностью более года, существенно повысило диагностические и лечебные возможности на орбите, обеспечило космонавтов широким набором методов профилактики неблагоприятного действия факторов космического полета и, в первую очередь, невесомости. Это привело к тому, что как в России, так и за рубежом встает вопрос о расширении границ допуска космонавтов к полёту, смягчении критериев отбора в отряд. Более того, в рамках коммерческих космических полетов, в космос летят люди с установленными хроническими заболеваниями.

Всё это свидетельствует о том, что заболевания в космосе уже появились и профилактический подход в космической медицине снижает свою актуальность. При переходе к традиционному клиническому подходу, подразумевающему диагностику и лечение заболеваний в условиях орбитальной станции или космического корабля, первым вопросом будет: насколько адекватен перенос средств и методов «земной» медицины в условия космического полета? И для ответа на него мы должны знать: имеет ли болезнь, в условиях невесомости, особенности, требующие изменения привычных подходов к диагностике и терапии.

На наш взгляд, патологический процесс, развивающийся в микрогравитации, может иметь серьёзные отличия от «земных условий». В настоящее время

серьезных исследований в этом направлении проведено не было, поэтому мы и посвятили свою работу изучению особенностей патологических процессов в условиях моделирования эффектов микрогравитации.

С самого начала было понятно, что проведение исследований в условиях реального космического полета, на данном этапе, практически невозможно. Поэтому работа выполнялась как комплексное экспериментальное исследование как с участием испытуемых-добровольцев, так и с использованием экспериментальных животных (крыс). Во всех экспериментальных сериях в качестве неблагоприятного фактора космического полета, который может изменить патофизиологию заболевания, была выбрана невесомость. Существует достаточное количество моделей микрогравитации как для человека, так и для животных. Известно, что микрогравитация влияет практически на все системы в организме, вызывает серьёзные адаптационные сдвиги в физиологических процессах, которые при определенных условиях могли бы усугубить течение болезни. У испытуемых-добровольцев в качестве модели эффектов микрогравитации выступала АНОГ и СИ, у крыс АОВ.

При выборе исследуемой патологии мы отошли в работе от изучения конкретных нозологий, это предмет дальнейших углубленных исследований, и постарались сконцентрировать свое внимание на основных типовых патологических процессах (воспаление, ишемия, некроз и др.). Из этих процессов, в конечном итоге, складывается патофизиология и клиническая картина отдельных заболеваний, поэтому понимание их особенностей позволит понять общие закономерности изменений большого количества нозологий.

На первом этапе были проведены исследования одного из ключевых симптомов многих заболеваний – боли. Боль, согласно определению экспертов Международной ассоциации по изучению боли (1994), - это неприятное ощущение и эмоциональное переживание, связанное с действительным или возможным повреждением тканей или описываемое в терминах такого повреждения. Исходя из этого определения практически любая патология, без учета локализации, может сопровождаться болевыми ощущениями. В формировании этого ощущения

принимают участие центральная (корковые представительства боли, ядра таламуса, ретикулярная формация и лимбическая система) и периферическая (спиноталамический, спиноретикулярный и спиномезенцефалический тракты, Аδ- и С- волокна нейронов спинномозговых ганглиев и др.) нервная система, тканевые альгогены (гистамин, серотонин, IL-1, ФНО и др.), альгогены плазмы крови (брадикинин, каллидин) и ряд структур антиноцицептивной системы. На каждое из этих звеньев невесомость может оказывать влияние.

В наших исследованиях было выявлено статистически значимое снижение болевой чувствительности у крыс под действием АОВ. Наиболее вероятными на наш взгляд было 2 механизма этих изменений: стрессиндуцированная анальгезия, опосредованная гормонами ГГAKC и изменения кровоснабжения подкорковых ноцицептивных структур за счёт перераспределения жидкости в краниальном направлении с изменениями условий церебрального кровотока. Нельзя было также исключать влияние на восприятие болевых ощущений периферических механизмов. На биоспутнике «Космос-782» было показано изменение метаболизма нейронов спинномозговых узлов [158], поэтому вывешивание могло сказаться на метаболизме ноцицептивных нейронов этих ганглиев. Уточнение механизмов этих изменений мы получили в экспериментах с участием испытуемых. Основным проявлением действия модели микрогравитации стало нивелирование нормальной суточной разницы в болевой чувствительности. Однако, ключевым результатом был возврат к фоновому уровню болевой чувствительности при сохранении у испытуемых режима гипокинезии, но изменении угла наклона тела с отрицательного (-6°) на положительный ($+9,6^\circ$). Динамика концентрации кортизола при этом не изменялась. Это доказывает, что ведущим фактором, повлиявшим на изменения болевой чувствительности, в наших моделях, был антиортостатический угол наклона тела или перемещение жидких сред в краниальном направлении. Последние данные полученные (Ниязов А.Р., Федяй С.О., Поздняков С.В., Поляков А.В.) в космическом эксперименте «Альгометрия», также свидетельствуют о значимом снижении болевой чувствительности у космонавтов в условиях реальной невесомости.

Ещё одним патологическим процессом, входящим в патогенез огромного количества болезней, является воспаление. Для изучения особенностей воспалительного процесса был выбран перитонит – инфекционный воспалительный процесс в брюшной полости. В качестве модели инфекционного воспаления перитонит имеет несколько существенных плюсов. В первую очередь, это тяжёлый процесс, влияющий на все системы в организме. Воспалительные изменения присутствуют непосредственно в брюшной полости (выпот, органы брюшной полости и забрюшинного пространства), в клиническом и биохимическом анализах крови, в системе иммунитета. Во-вторых, существует достаточное количество моделей этого процесса, доступных для воспроизведения на крысах. И, наконец, перитонит может стать результатом целого ряда заболеваний и патологических состояний, которые могут развиваться у космонавта на орбите и в ходе межпланетного полета даже при соблюдении всех ограничений на этапе отбора и подготовки. К таким заболеваниям относятся язвенная болезнь желудка и 12-ти перстной кишки, аппендицит, осложнённый калькулёзный холецистит, тупая травма живота, то есть всё, что может привести к перфорации полых органов брюшной полости и её бактериальному инфицированию.

При моделировании перитонита в условиях вивария и у вывешенных животных существенных отличий в смертности выявлено не было. В группах погибло, соответственно, 30 и 25 % животных. Однако, АОВ существенно и неоднозначно изменило патофизиологические и морфологические проявления воспалительного процесса. В целом, можно отметить более тяжелое течение перитонита у крыс на фоне вывешивания. Это выражалось в ухудшение состояния стенки кишки, в которой помимо лейкоцитарной инфильтрации и отёка, характерных для перитонита, появлялись грубые сосудистые нарушения, сопровождавшиеся стазом с появлением эритроцитарных агрегатов и участками разрушения сосудистой стенки.

Помимо морфологических изменений, перитонит в условиях АОВ сопровождался усилением катаболических процессов, гипопротеинемией и гипоальбуминемией. Повышенный уровень аминотрансфераз (АСТ) также

свидетельствует о большем повреждении печени в условиях эффектов микрогравитации, хотя морфологическая картина печени это не подтверждает. Циркуляторные нарушения в печени при перитоните в условия вивария выражены значительно больше. Вероятно, это можно объяснить специфическим вено-венозным кровоснабжением печени, которое лучше адаптируется к перегрузке объемом крови, связанным с увеличенным кровенаполнением брюшной полости.

Поджелудочная железа, также реагировала гораздо более выраженными изменениями в условиях вывешивания. И хотя также, как в стенке кишки, в ней наблюдали признаки полнокровия с расширением сосудистой сети и стазом крови, главной причиной более выраженного панкреатита стала измененная ферментативная активность. У вывешенных животных без формирования перитонита отмечено существенное увеличение в ацинарных клетках железы гранул профермента зимогена. Очевидно, нарушение структуры этих гранул, спровоцированное воспалительным процессом, приводило к массивному аутолизу панкреатоцитов. Ещё одним доказательством того, что замедление высвобождения зимогена было причиной более грубых изменений, стало отсутствие каких-либо морфологических отклонений в клетках островков Лангерганса, ответственных за эндокринную функцию.

Несмотря на то, что основные подходы к терапии подобного состояния в условиях космического полета не будут отличаться от «земных» и будут направлены на элиминацию бактериального агента, дезинтоксикационные мероприятия, коррекцию водно-электролитных и белковых нарушений, необходимо будет учитывать и дополнительные потребности в белке (в первую очередь альбумине) и высокий уровень катаболизма и повышенные риски эндотоксикоза за счёт присоединения к воспалительному процессу панкреатита.

Исходом воспалительного процесса во многих случаях является некроз. Это типовой патологический процесс, который мы не могли обойти своим вниманием. В качестве модели некроза нами было выбрано ишемическое и геморрагическое повреждение мозга.

Для оценки морфологических и клинических признаков некроза на фоне вывешивания мы провели контрольную серию, в которой выяснили, что АОВ само по себе приводит к некоторому снижению когнитивных способностей животных, выражающихся в ухудшении памяти (ослаблении УРПИ, сохранении двигательной активности при предъявлении знакомой обстановки). Также была отмечена тенденция к уменьшению активности процессов естественной регенерации.

Моделирование ишемического инсульта привело к статистически значимому снижению когнитивных способностей у всех животных, однако, в условиях АОВ это было выражено сильнее. Помимо этого, выявлены морфологические особенности регенерации мозговой ткани, которые выражались в том, что у вывешенных крыс большинство новообразованных сосудов в зоне поражения были обычного эндотелиального строения, в то время как в контрольной группе в образовании сосудов основную роль играли макрофаги.

Ещё более яркие результаты были получены в группе с геморрагическим инсультом. Самые грубые морфологические нарушения были отмечены в группе крыс, которые находились в условиях АОВ, в течение недели после индукции некроза. Это были и экстравазаты, и выраженные признаки застоя крови не только в сосудах пограничной зоны, но и в окружающей зону некроза нормальной ткани. Морфологическая картина прямо коррелировала с клиникой. В этой группе смертность в течение первых суток составила 75%, а восстановление двигательной функции было худшим из всех экспериментальных групп.

В то же время, процессы регенерации у этих животных, анализируемые по количеству двухъядерных нейронов также были значительно более выражены, по сравнению с «виварийным инсультом».

Однако, необходимо отметить и интересный факт, о влиянии вывешивания, предшествовавшего индукции некроза. У животных, которые неделю находились под действием эффектов микрогравитации до инсульта и процесс регенерации проходил интенсивнее (в исследуемом очаге процесс новообразования сосудов шёл активнее, признаки циркуляторных нарушений практически отсутствовали) и через

7 суток произошло полное восстановление двигательной функции. Хотя смертность в этой группе превышала показатели контрольных групп.

И самую лучшую динамику демонстрировали животные группы, в которой возникновению инсульта предшествовала короткая «невесомость». У этих крыс помимо лучших показателей регенерации (самые зрелые новообразованные сосуды, наибольшее количество двухъядерных нейронов) была минимальная смертности и полное восстановление двигательной функции.

Эти результаты подтверждают наше предположение о том, что особенности патогенеза при повреждении головного мозга, вызванные эффектами модели микрогравитации, реализуются в клинической картине патологического процесса и напрямую влияют на его исход.

Нельзя не отметить и положительный эффект, который имеет перераспределение крови в краниальном направлении на регенераторные механизмы повреждения, если после инсульта животное находится в обычных условиях. Возможно, этот факт позволит найти новые подходы к восстановлению больных с повреждением головного мозга.

Ещё одним патологическим процессом, который мы исследовали в рамках нашей работы стала гиповолемия. Достаточно большое количество заболеваний и повреждений сопровождается потерей жидкости и снижением ОЦК. Вместе с тем, хорошо известно, что сама по себе микрогравитация, за счёт перегрузки верхней половины туловища объемом крови, запускает процесс повышенного выделения жидкости организмом. Патологические потери жидкости/плазмы/крови, в первую очередь, отразятся на системе микроциркуляции и, соответственно газообмене, как главным результате эффективной работы сердечно-сосудистой системы. Поэтому в нашем исследовании мы сосредоточили своё внимание на состоянии периферического кровотока и газообмене при дополнительных потерях жидкости на фоне АНОГ.

В АНОГ основные потери жидкости приходились на сегмент внутриклеточной жидкости в грудной и брюшной полостях и в суточном интервале напрямую существенно не влияли на ОЦК. В то время, как дополнительные потери,

вызываемые нами, непосредственно затрагивали сектор внеклеточной жидкости, то есть плазму крови и интерстициальную жидкость. И хотя, в первую очередь это связано с использованной моделью – введение диуретика, можно отметить, что большинство патологических процессов также будет на первом этапе в основном влиять на внеклеточную жидкость. Планирование регидратационной терапии при возникновении патологических процессов, сопровождающихся потерями жидкости, потребует учета скрытого дефицита внутриклеточной жидкости.

При дополнительных потерях жидкости в условиях АНОГ появляются признаки шунтирования крови в системе микроциркуляции, выражающееся в снижении капиллярного газообмена с ростом парциального напряжения кислорода и снижения парциального напряжения углекислого газа в венозном русле.

В то же время, уже через 12 часов воздействия эффектов моделированной микрогравитации выявлен рост парциального напряжения углекислого газа, как в венозной, так и в артериальной крови. Вероятно, это связано с уменьшением чувствительности дыхательного центра, вызванного перераспределением крови в краниальном направлении, что подтверждают данные полученные в наземных и космическом экспериментах [208, 209]. Снижение чувствительности дыхательного центра у здорового человека в условиях микрогравитации относится к адаптационным механизмам связанным, в том числе, со снижением основного обмена и уменьшением потребности в кислороде, но при возникновении заболевания связанного с развитием дефицита кислорода это может серьёзно усугубить проявления гипоксии.

К сердечно-сосудистой системе космонавтов внимание исследователей было приковано с первого полета человека в космос [210]. Мы исследовали особенности развития инфаркта миокарда на фоне моделирования эффектов микрогравитации. На первом этапе выяснили, что АОВ у крыс вызывает обратимые изменения на ЭКГ, которые выражаются в укорочении интервала PQ (PR) и удлинении интервала QT. ЭХО-КГ также показала обратимое снижение ФВ в пределах физиологической нормы. Все эти изменения полностью нивелировались через 2 недели после вывешивания.

Изопротереноловая индукция инфаркта миокарда непосредственно после АОВ приводила к существенно более длительному восстановлению животных. В обычных условиях потерю массы тела, вызванную вывешиванием животные восполняют к концу 2 недели. При индукции инфаркта миокарда масса животных не восстанавливалась даже через 5 недель при сравнении с контрольной группой. При этом инфаркт миокарда в условиях вивария вообще не приводил к какому-либо дефициту массы.

Ведущим ЭКГ признаком повреждения миокарда у вывешенных животных стало расширение комплекса QRS и интервала QT, в то время, когда при инфаркте в условиях вивария, основным признаком было снижение амплитуды зубца R, особенно в первые сутки после введения изопротеренола. Также можно отметить большую частоту появления зубца Q у крыс с сочетанием АОВ и инфаркта, поскольку в группе с изолированным инфарктом, вызванным изопротеренолом, он практически отсутствует.

К клиническим проявлениям инфаркта миокарда у вывешенных животных относится более высокая частота аритмий.

О большей выраженности воспалительной реакции спровоцированной инфарктом на фоне АОВ, свидетельствует статистически значимый лейкоцитоз со сдвигом формулы влево и увеличением количества палочкоядерных нейтрофилов. При этом данные изменения крови происходят на фоне лимфопении, вероятнее всего вызванной моделированием эффектов микрогравитации, поскольку статистически значимое снижение лимфоцитов отмечается у животных в группе «чистого» АОВ.

При интегральной оценке белкового состава плазмы крови методом ЛКС, инфаркт миокарда на фоне вывешивания отличает преобладание частиц среднего размера (50-150 нм).

Ещё одним интересным фактом стала необходимость изменения изопротереноловой модели инфаркта миокарда в отсроченном периоде после вывешивания. Через 6 месяцев после вывешивания при стандартной дозировке изопротеренола, которую крысы нормально переносили непосредственно после

АОВ, смертность составила 100%. Это потребовала уменьшение дозировки изопротеренола и уменьшение срока экспозиции после вывешивания до 4 месяцев.

Обобщая все полученные данные, можно с определенностью сказать, что модели микрогравитации изменяют течение таких патологических процессов как воспаление, ишемия и некроз тканей (рисунок 112). Эти изменения реализуются как на уровне морфологии тканей, так и на уровне их функции. Всё это приводит к удлинению течения болезни и ухудшению прогноза на исход.

Циркуляторные изменения, вызываемые гравитационным перераспределением крови, приводят к ухудшению патофизиологической картины в стенке кишки, при перитоните или в ткани головного мозга при развитии как ишемического, так и геморрагического поражения. Помимо этого, перераспределение крови меняет чувствительность центральных механизмов восприятия боли и центрального дыхательного механизма. Это позволяет нам характеризовать перераспределение крови и других жидких сред в краниальном направлении как один из основных механизмов, опосредующих влияние микрогравитации на развитие патологических процессов.

Более грубые нарушения двигательной функции и когнитивных способностей у животных с инсультом на фоне АОВ, задержка в восстановлении массы тела у крыс с инфарктом после вывешивания, свидетельствуют о реализации особенностей патофизиологии заболеваний в их клиническую картину. Это согласуется и с более высоким процентом смертности, особенно у животных с поражением головного мозга.

Необходимо отметить влияние АОВ на регенераторные процессы. Особенный интерес вызывают данные, свидетельствующие о положительном влиянии краткосрочного перераспределения крови в краниальном направлении, предшествующего возникновению поражения головного мозга. Возможно изучение механизмов влияющих на положительную динамику, как морфологической, так и клинической картины патологического процесса, позволит предложить новые подходы к реабилитации пациентов перенесших инфаркт мозга.

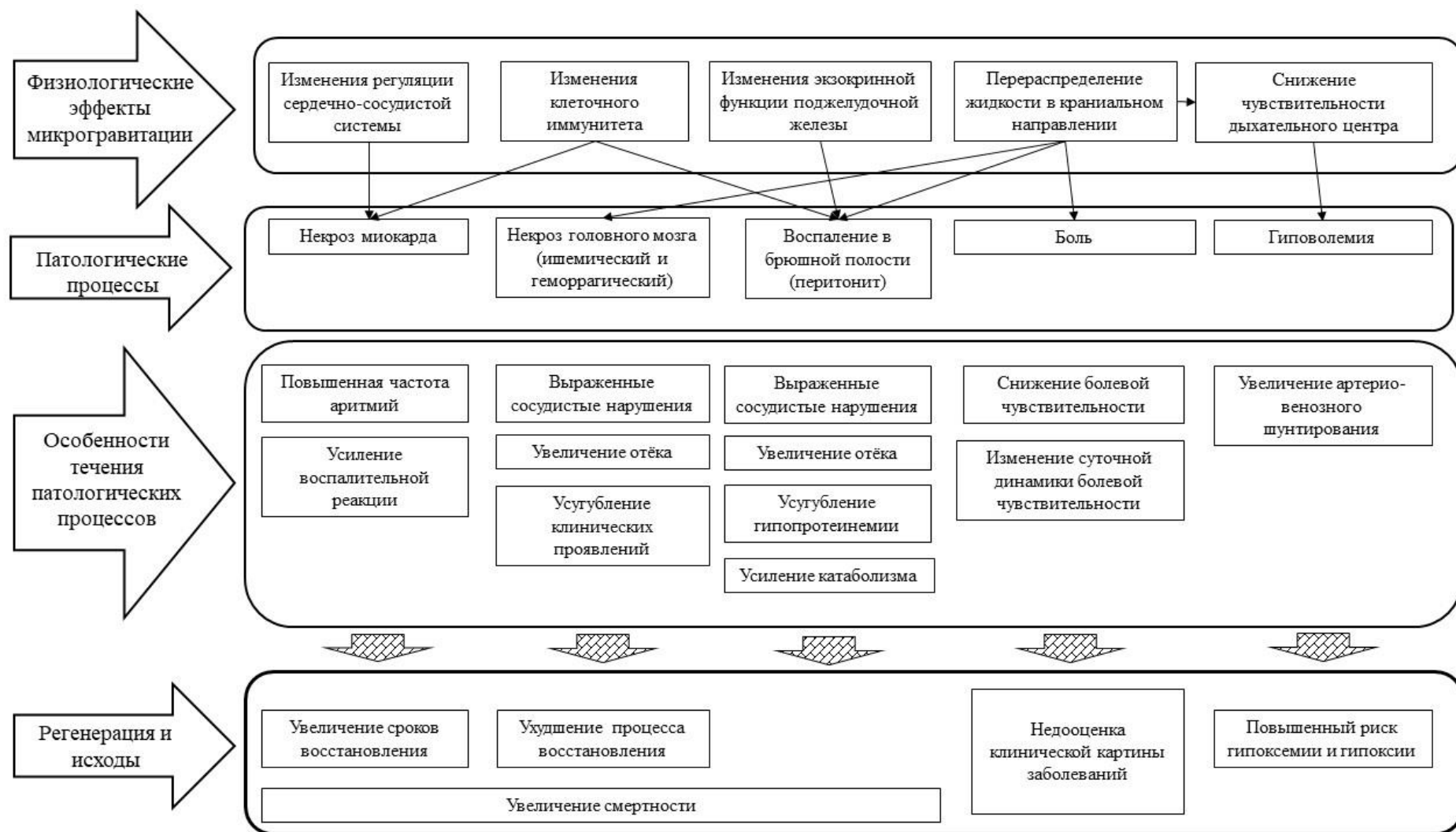


Рисунок 112. Взаимосвязь физиологических эффектов микрогравитации и особенностей типовых патологических процессов.

ВЫВОДЫ

1. Моделированная микрогравитация вызывает снижение болевой чувствительности и ведущим механизмом этого является перераспределение жидкости в краниальном направлении.
2. При инфекционном воспалении антиортостатическое вывешивание вызывает разнонаправленные морфологические изменения в органах брюшной полости. Сосудистые изменения в стенке кишки и поджелудочной железе реализуются в более грубые нарушения, а печеночный кровоток, наоборот, лучше адаптируется к сочетанию перитонита и эффектов микрогравитации.
3. Течение перитонита у животных в АОВ носит более тяжелый характер: с белковой недостаточностью, повышенным уровнем катаболизма и признаками повреждения гепатоцитов. Дополнительным неблагоприятным фактором является изменение ферментативной активности поджелудочной железы, которое может провоцировать значительный аутолиз экзокринных клеток и присоединение к клинической картине явлений панкреатита.
4. АОВ приводит к снижению когнитивных способностей крыс, выражающееся, в первую очередь, в снижении памяти. Эта тенденция сохраняется при развитии ишемического некроза головного мозга в АОВ, когда снижение памяти значительно более выражено, чем при некрозе в условиях вивария.
5. Морфологические изменения при геморрагическом некрозе головного мозга максимально выражены у крыс, находившихся после индукции повреждения в условиях АОВ, что, в свою очередь, отразилось на более тяжёлой клинической картине и худшем исходе патологического процесса.
6. Непродолжительное (2 суток) перераспределение крови в краниальном направлении, предшествующее возникновению некроза головного мозга, положительно сказывается на процессе регенерации и выражается в улучшении восстановления двигательной функции и более благоприятном исходе заболевания.

7. Дополнительные потери жидкости на фоне воздействия моделированных эффектов микрогравитации запускают механизм артерио-венозного шунтирования крови, который может усугубить тканевую гипоксию, особенно на фоне снижения чувствительности дыхательного центра.
8. Инфаркт миокарда, индуцированный у животных, предварительно прошедших моделирование эффектов микрогравитации, характеризуется большей выраженностью ЭКГ-признаков, таких как расширение комплекса QRS и интервала QT, большая частота появления зубца Q и аритмий, и более выраженной воспалительной реакцией, проявляющейся лейкоцитозом со сдвигом формулы влево на фоне лимфопении.
9. Индукция инфаркта миокарда после АОВ приводит к задержке восстановления массы тела животных более чем в 2,5 раза (с 2-х до 5 недель).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ЭКГ – электрокардиография

МКС – международная космическая станция

ОЦК – объём циркулирующей крови

АНОП – антиортостатическое положение

ЧСС – частота сердечных сокращений

ВСП – временное смещение порогового слуха

ПСП – постоянное смещение порогового слуха

ВКД – внекорабельная деятельность

СЖО – системы жизнеобеспечения

SANS - Spaceflight associated neuro-ocular syndrome (нейро-окулярный синдром)

АТФ – аденозинтрифосфат

АФК – активные формы кислорода

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

RPM – random position mashine (3D-клиноостат)

RWV – rotating wall vessel (3D-клиноостат)

ICAM-1 – Intercellular Adhesion Molecule-1

IL – interleukin

ФНО – фактор некроза опухоли

РЭГ – реоэнцефалография

TNF – tumor necrosis factor

АД – артериальное давление

VEGF – Vascular endothelial growth factor

IGFBP – Insulin-like growth factor-binding protein

ВКМ – внеклеточный матрикс

ИБС – ишемическая болезнь сердца

АНОГ – антиортостатическая гипокинезия

ОГ – ортостатическая гипокинезия

СИ – сухая иммерсия

ПЧ – порог чувствительности

ПП – порог переносимости
АВС – анализатор водных секторов
ВКЖ – внеклеточная жидкость
КЖ – клеточная жидкость
ОЖ – общая жидкость
АОВ – антиортостатическое вывешивание
PRP – platelet rich plasma
УРПИ – условный рефлекс пассивного избегания
ЛП – латентный период
ЦНС – центральная нервная система
ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота
АЛТ – аланинаминотрансфераза
АСТ – аспартатаминотрансфераза
ЛДГ – лактатдегидрогеназа
ПБР – порог болевой реакции
ГГАКС – гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная система
КРГ – кортикотропин релизинг гормон
АКТГ – адренокортикотропный гормон
ПБП – порог болевой переносимости
ЭГ – экспериментальная группа
КГ – контрольная группа
С – стойка
ГА – горизонтальная активность
РНК – рибонуклеиновая кислота
ФБС – фосфатная буферная система
КП – космический полёт
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
ПЗ – периваскулярная зона
АО – артериальный отдел
ВО – венозный отдел

Эхо-КГ – эхокардиография

ВСР – вариабельность сердечного ритма

КСР – конечный систолический размер

КДР – конечный диастолический размер

ФВ – фракция выброса

ФУ – фракция укорочения

ЛКС – лазерная корреляционная спектроскопия

ЛЖ – левый желудочек

СНФ – снижение насосной функции

ЛК-спектр – лазерный корреляционный спектр

ЛО – ложная операция

ИМ – инфаркт миокарда

ЛКА – левая коронарная артерия

ГОФП – гематоксилин-основной фуксин-пикриновая кислота

BNP – brain natriuretic peptide

ИЗО – изопротеренол

СН – сердечная недостаточность

SDNN – standard deviation of normal-to-normal intervals

RMSSD – root mean square of the successive differences

HF – high frequency

LF – low frequency

VLF – very low frequency

МВ-КФК – МВ-креатинфосфокиназа

ТЭЛА – тромбоэмболия лёгочной артерии

КДД – конечное диастолическое давление

CV – coefficient of variation

Лейк – лейкоциты

Нейтр – нейтрофилы

Лимф – лимфоциты

Мон – моноциты

Эоз – эозинофилы

Баз – базофилы

РНП – рибонуклеопротейны

ДНП – дезоксирибонуклеопротейны

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алфрей К.П. Объем крови и гемопоэз. Человек в космическом полете. Том 3, книга 1/ К.П. Алфрей, Т.Б. Дрисколл, В.С. Галей, К. Лич Хантун //М.: Наука. – 1997 – С. 175-191.
2. Григорьев А.И. Изучение взаимодействия эндокринной, почечной систем и циркуляторных факторов в поддержании объемного и электролитного гомеостаза в условиях микрогравитации: российско-американский проект. Исследования метаболизма. Орбитальная станция «Мир». Том 2 /А.И. Григорьев, К. Хантун, Б.В. Моруков, Х. Лейн, И.М. Ларина, С. Смит// М.: ГНЦ РФ-ИМБП РАН. – 2002. – С. 69-85.
3. Колесниченко Ю.Ю. Влияние факторов невесомости на эхокардиографические параметры здорового человека: [Электронный ресурс] / Ю.Ю. Колесниченко, О.Ю. Колесниченко, Д.Г. Саенко // 2002. URL: <http://www.securityanalysisbulletin.com/analysis/6/115/vliyanie-faktorov-nevesomosti-na-ehokardiograficheskie-parametry.html>. (Дата обращения: 11.02.2018).
4. Константинова И.В. Система иммунитета. Человек в космическом полете. Том 3, книга 1/ И.В. Константинова //М.: Наука. – 1997 – С. 192-233.
5. Моруков Б.В. Исследования системы иммунитета российских космонавтов до и после длительных космических полетов на МКС. Медико-биологические исследования на российском сегменте МКС. Международная космическая станция. Том 2/ Б.В. Моруков, М.П. Рыкова, Е.Н. Антропова, Т.А. Берендеева, С.А. Пономарев// М.: ГНЦ РФ-ИМБП РАН. – 2011. – С.209-221.
6. Ничипорук И.А. Исследования состояния иммунной системы и ее регуляторных механизмов у человека в космическом полете (космический эксперимент «Иммуно»). Медико-биологические эксперименты на борту российского сегмента международной космической станции /И.А. Ничипорук, Т.В. Журавлева, С.А. Чистоходова// М.: ГНЦ РФ – ИМБП РАН. – 2021. – С. 40-42.

7. Cogoli-Greuter M. et al. Movements and interactions of leukocytes in microgravity // *Journal of biotechnology*. – 1996. – Т. 47. – №. 2-3. – С. 279-287.
8. Sears J. K., Argenyi Z. E. Cutaneous wound healing in space // *Cutis*. – 1991. – Т. 48. – №. 4. – С. 307-308.
9. Неумывакин И.П. Принципы, методы и средства оказания медицинской помощи космонавтам при полетах различной продолжительности/ И.П. Неумывакин // Дисс. д.м.н. М. – 1982. – С. 114.
10. Гончаров И.Б. Анализ заболеваемости в космическом полете / И. Б. Гончаров, И. В. Ковачевич, А. Ф. Жерनावков // *Косм. биология и медицина*. – 2001. – Т.4. – С.145-164.
11. Григорьев А.И. Основные механизмы невесомости / А. И. Григорьев, Н. Н. Гуровский, А. Д. Егоров // *Косм. биология и медицина*. – М.: Наука, 1987. – С. 49-59.
12. Nicogossian, M.C. Overall physiologic response to space flight / М. С. Nicogossian, С. F. Sawin, С. L. Huntoon // *Space Physiology and Medicine* / А. E. Nicogossian [eds.].- 3rd ed.- Philadelphia: Lea & Febiger, 1994.- P. 213-228.
13. Еремин А.В., Рудный Н.М. Факторы, обусловленные динамикой полета // *Космическая биология и медицина*. М.: Наука, 1987. С. 7-34.
14. Газенко О.Г. Обзор основных результатов медицинских исследований 'по программе второй основной экспедиции на орбитальный комплекс "Мир"/ О.Г. Газенко, А.И. Григорьев, С.А. Бугров и др. // *Космич. биология и авиакосмич. медицина*. 1990. Т. 24, № 4. С. 3-11.
15. Григорьев А.И. Обзор основных медицинских результатов годового полета на станции "Мир"/ А.И. Григорьев, С.А. Бугров, В.В. Богомолов и др. // *Космич. биология и авиакосмич. медицина*. 1990. Т. 24, № 5. С. 3-10.
16. Homick J.L. Validation of predictive tests and counter measures for space motion sickness // *Shuttle of medical report* / Johnson Space Center. Houston (TX), 1984. P. 99. (NASA Techn. Memorandum; 58352).
17. Егоров А.Д. Исследование функционального состояния сердечно-сосудистой системы в длительных космических полетах / А.Д. Егоров, О.Г.

Ицеховский, И.В. Алферова и др. // Физиологические проблемы невесомости. – М.: Медицина, 1990. – С. 70-93.

18. Панферова Н.Е. Гиподинамия и сердечно-сосудистая система. М. 1977. С. 24-35.
19. Егоров А.Д. Квалификация реакций организма человека, развивающихся в условиях микрогравитации. //Авиакосмическая и экологическая медицина. 1996. №4. С. 14-20.
20. Голубчикова И. В., Алферова В.Р., Лямин В.Р. и др. Исследования биоэлектрической активности миокарда. Орбитальная станция «Мир». М. 2001. Т. 1.С. 276-282.
21. Кабулова А.З., Иванов Г.Г., Пашенко А.В., Баевский Р.М. Исследование диагностической и прогностической значимости метода электрокардиографии высокого разрешения при действии факторов космического полета // Авиакосмическая и экологическая медицина, 2007, №2, С. 29-34.
22. John B. Charles, and Claire M. Lathers, Cardiovascular Adaptation to Spaceflight J. Clin. Pharmacol. 1991;31:1010-1023.
23. Atkov, O. Yu., V. S. Bendenko, and G. A. Fomina. Ultrasound techniques in space medicine. Aviat. Space Environ. Med. 58 (Suppl.): A69-A73, 1987.
24. Мясников В.И., Козыренко О.П., Богдашевский Р.Б. Психологическая надежность космонавтов в полете// Космическая биология и медицина. М. Наука, 1987. С. 88-102.
25. Стажадзе Л.Л., Гончаров И.Б., Неумывакин И.П. и др. Проблемы обезболивания, хирургической помощи и реанимации во время пилотируемых космических полетов // Космич. биология и авиакосмич. медицина. 1982. Т. 16, № 4. С. 9-12.
26. Cann C. E. Bones and Stones in Space—Integrating the Medical and Scientific Questions //SAE Transactions. – 1987. – С. 593-599.
27. Баранов В.М., Демин Е.П., Степанов В.И. и др. Эксперимент SFINCSS-99 – моделирование полета международного экипажа на космической станции. В

- сб. Модельный эксперимент с длительной изоляцией: проблемы и достижения. М.2001. С.21-23.
28. Мясников В.И., Усков Ф.Н., Козыренко О.П., Макаров В.И. Психологическая надежность космонавтов//Результаты медицинских исследований, выполненных на орбитальном научно-исследовательском комплексе "Салют-6"- "Союз". М.: Наука, 1986. С. 185-203.
 29. Богомолов В. В., Гончаров И. Б., Стажадзе Л. Л. Средства и методы медицинской помощи. Организация медицинской помощи на этапах космических полетов. Боль и обезболивание в полете./Руководство по физиологии //Космическая биология и медицина.–М., Наука. – 1987. – С. 255-270.
 30. Афонин Б.В., Ничипорук И.А., Зякун А.М. и др. Эксперимент SFINCSS-99 – моделирование полета международного экипажа на космической станции. В сб.: Модельный эксперимент с длительной изоляцией: проблемы и достижения. М.2001. С. 238-250.
 31. Лизько Н.Н., Гончарова Г.И. Использование бифидумбактерина для коррекции дисбактериоза кишечника // Космич. биология и авиакосмич. медицина. 1987. Т. 21, № 4. С. 70-72.
 32. Жизневская О.В., Медкова ИМ. Исследование спектра желчных кислот в условиях 120 - суточной антиортостатической гипокинезии у человека // Там же. 1985. Т. 19, № 2. С. 33-35.
 33. Burr R. G., Palinkas L. A. Health risks among submarine personnel in the US Navy, 1974-1979. – NAVAL HEALTH RESEARCH CENTER SAN DIEGO CA, 1986.
 34. Tansey W. A., Wilson J. M., Schaefer K. E. Analysis of health data from 10 years of Polaris submarine patrols //Undersea biomedical research. – 1979. – Т. 6. – С. S217-46.
 35. Lugg D. J. Antarctic epidemiology: A survey of ANARE Stations 1947–72 //Polar human biology. – Butterworth-Heinemann, 1973. – С. 93-104.

36. Nelson B. D. et al. Medical impact analysis for the space station // Aviation, space, and environmental medicine. – 1990. – Т. 61. – №. 2. – С. 169-175.
37. Boyce J.B. Medical consents for a crew emergency return vehicle // Crew emergency return vehicle report. Houston (TX), 1987. (JSC-32025).
38. Богатова Р.И. Физические факторы среды обитания орбитальной станции «Мир». Санитарно-гигиеническое обеспечение. Орбитальная станция «Мир». Том 1/Р.И. Богатова, А.Н. Агуреев, И.В. Кутина, С.В. Спиридонов// М.: ГНЦ РФ-ИМБП РАН. – 2001. – С. 93-104.
39. Богатова Р.И. Физические факторы среды обитания международной космической станции. Международная космическая станция. Том 1/ Р.И. Богатова, И.В. Кутина, И.В. Тятых// М.: ГНЦ РФ-ИМБП РАН. – 2011. – С.268-298.
40. Slepecky N. Overview of mechanical damage to the inner ear: noise as a tool to probe cochlear function. Hear Res. 1986; 22:307–21.
41. Henderson D, Bielefeld EC, Harris KC, Hu BH. The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss. Ear & Hearing. 2005; 27(1):2–19.
42. Begault DR. Assessment and mitigation of the effects of noise on habitability in deep space environments: report on non-auditory effects of noise. NASA. NASA/TM-2018-219748; 2018.
43. Еремин А.В., Рудный Н.М. Факторы, обусловленные динамикой полета // Космическая биология и медицина. М.: Наука, 1987. С. 7-34.
44. Smith SD, Goodman JR, Grosvekd FW. Vibration and acoustics. In: Davis, Johnson, Stepanek, Fogarty, editors. Fundamentals of aerospace medicine. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2008. [Chapter 5].
45. Hacker BC, Grimwood JM. On the shoulders of titans: a history of project Gemini. In: Challenge and change. Section entitled ‘Chamberlin Departs.’ NASA Special Publication 4203. 1977 [Chapter 5].
46. Grimwood JM, Hacker BC, Vorzimmer J. Project Gemini technology and operations. NASA SP-4002. 1969. p. 68, 84, 93, 103.
47. Adler HF. Dysbarism. USAFSAM aeromedical review #1–64 1964:166pp.

48. Weien RW, Rapid Decompression and Decompression Sickness. In: Pilmanis AA, Sears WJ, editors. Raising the operational ceiling: A workshop on the life support and physiological issues of flight at 60,000 feet and above. USAF Armstrong Laboratory Special Report # USAF AL/CF-SR-1995-0021. San Antonio: Brooks AFB; 1995. p. 390pp.
49. Pilmanis AA, Petropoulos L, Kannan N, Webb JT. Decompression sickness risk model: development and validation by 150 prospective hypobaric exposures. *Aviat Space Environ Med.* 2004; 75:749–59.
50. ГОСТ Р 50804-95 Среда обитания космонавта в пилотируемом космическом аппарате. Общие медико-технические требования. М., 1995. 118 с.
51. Petrassi FA, Hodkinson PD, Walters PL, Gaydos SJ. Hypoxic hypoxia at moderate altitudes: review of the state of the science. *Aviat Space Environ Med.* 2012;83(10):975–84.
52. Turner CE, Byblow WD, Gant N. Creatine supplementation enhances corticomotor excitability and cognitive performance during oxygen deprivation. *J Neurosci.* 2015;35(4):1773–80.
53. San T, Polat S, Cingi C, Eskiizmir G, Oghan F, Cakir B. Effects of high altitude on sleep and respiratory system and theirs adaptations. *ScientificWorldJournal.* 2013;2013:241569.
54. Микос К.И., Половинкин А.А., Савина А.П. Взаимодействие химических веществ, загрязняющих газовую среду гермозамкнутых помещений // *Космич. биологии и авиакосмич. медицина.* 1988. Т. 22, № 3. С. 72-75.
55. Нефедов Ю.Г., Новикова Н.Д., Суровежин И.Н. Продукты микробиологического повреждения полимерных материалов как фактор возможного загрязнения атмосферы герметично замкнутого помещения токсическими веществами // Там же. С. 67-71.
56. Новикова Н.Д. Микробиологический контроль среды обитания Международной космической станции. *Международная космическая станция. Том 1/ Н.Д. Новикова, С.В. Поддубко, Е.А. Дешевая, Н.А. Поликарпов*// М.: ГНЦ РФ-ИМБП РАН. – 2011. – С.320-332.

57. Ильин В. К. Колонизационная резистентность организма в измененных условиях обитания//Ильин В.К., Воложин А.И., Виха Г.В./ М.:Наука – 2005 –
58. Роббинс Д. Е. Ионизирующая радиация. Человек в космическом полете. Том 3, книга 2. Космическая биология и медицина/Д.Е. Роббинс, В.М. Петров, В. Шиммерлинг, И.Б. Ушаков //М.: Наука. – 1997 – С. 155-205.
59. Townsend LW, Shinn JL, Wilson JW. Interplanetary crew exposure estimates for the August 1972 and October 1989 solar particle events. Radiat Res. 1991;126:108–10.
60. Conklin JJ, Walker RI. Military radiobiology. Orlando: Academic Press; 1987.
61. Preston DL, Shimizu Y, Pierce DA, Suyama A, Mabuchi K. Studies of mortality of atomic bomb survivors. Report 13: Solid cancer and noncancer disease mortality: 1950–1997. Radiat Res. 2003;160(4):381–407.
62. Yu T, Parks BW, Yu S, Srivastava R, Gupta K, Wu X, et al. Iron-ion radiation accelerates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. Radiat Res. 2011;175(6):766–73.
63. Soucy KG, Lim HK, Kim JH, Oh Y, Attarzadeh DO, Sevinc B, et al. HZE (5)(6)Fe-ion irradiation induces endothelial dysfunction in rat aorta: role of xanthine oxidase. Radiat Res. 2011;176(4):474–85.
64. Газенко О.Г., Григорьев А.И., Бугров С.А. и др. Обзор основных результатов медицинских исследований 'по программе второй основной экспедиции на орбитальный комплекс "Мир" // Космич. биология и авиакосмич. медицина. 1990. Т. 24, № 4. С. 3-11.
65. Григорьев А.И., Бугров С.А., Богомолов В.В. и др. Обзор основных медицинских результатов годового полета на станции "Мир" // Космич. биология и авиакосмич. медицина. 1990. Т. 24, № 5. С. 3-10.
66. Неумывакин И.П. Принципы, методы и средства оказания медицинской помощи космонавтам при полетах различной продолжительности: Автореф. дис. д-ра мед. наук. М., 1982.

67. Гончаров И.Б., Ковачевич И.В., Жерनावков А.Ф. Анализ заболеваемости в космическом полете.// Космическая биология и медицина, М. Наука, 2001, т. IV, С.145-164.
68. Hawkins WR, Zieglschmid JF. Clinical aspects of crew health. In: Johnston RS, Dietlein LF, Berry CA, editors. Biomedical results of Apollo. Washington, DC: U.S. Government Printing Office; 1975. p. 43–81. NASA SP-368.
69. Scheuring RA, Mathers CH, Jones JA, Wear MA. Musculoskeletal injuries and minor trauma in space: incidence and injury mechanisms. *Aviat Space Environ Med.* 2009; 80:117–24
70. McCuaig K. Surgical problems in space: an overview. *J. Clin. Pharmacol.* 1994; 34: 513–7.
71. Kirkpatrick AW, Campbell MR, Novinkov OL, et al. Blunt trauma and operative care in microgravity: a review of microgravity physiology and surgical investigations with implications for critical care and operative treatment in space. *J Am Coll Surg.* 1997;184: 441–53. 38.
72. Sears JK, Argenvi ZE. Cutaneous wound healing in space. *Cutis.* 1991;48:307–8. 39.
73. Stauber WT, Fritz VK, Burkovskaya TE, et al. Effect of spaceflight on the extracellular matrix of skeletal muscle after a crush injury. *J Appl Physiol.* 1992;73:74S–81S.
74. Kerstman EL, Scheuring RA, Barnes MG, DeKorse TB, Saile LG. Space adaptation back pain: a retrospective study. *Aviat Space Environ Med.* 2012;83(1):2–7
75. Putcha L, Berens KL, Marshburn TH, et al. Pharmaceutical use by U.S. astronauts on space shuttle missions. *Aviat. Space Environ. Med.* 1999; 70:705–8.
76. Newkirk D. Second-generation space stations. In: *Almanac of Soviet manned space flight.* Houston: Gulf Publishing Company; 1990.
77. Wotring VE. Medication use by U.S crewmembers on the International Space Station. *FASEB J.* 2015;29(11):4417–2.

78. Lee A. G. et al. Spaceflight associated neuro-ocular syndrome (SANS) and the neuro-ophthalmologic effects of microgravity: a review and an update //npj Microgravity. – 2020. – Т. 6. – №. 1. – С. 1-10.
79. Pierson DL, Chidambaram M, Heath JD, et al. Epidemiology of Staphylococcus aureus during space flight. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1996;16:273–81.
80. Nicogossian AE, LaPinta CK, Burchard EC, et al. Crew health. In: Nicogossian AE, editor. The Apollo-Soyuz test project: medical report. Washington, DC: NASA Headquarters; 1977. NASA SP-411
81. Marshburn TH. Acute care. In: Barratt M, Pool S, editors. Principles of clinical medicine for space flight. New York: Springer; 2008. p. 101–22.
82. Institute of Medicine (U.S.). Committee on Creating a Vision for Space Medicine during Travel Beyond Earth Orbit. In: Ball JR, Evans Jr CH, editors. Safe passage: astronaut care for exploration missions. Institute of Medicine, National Academies Press: Washington, DC; 2001. p. 83
83. Newkirk D. Second-generation space stations. In: Almanac of Soviet manned space flight. Houston: Gulf Publishing Company; 1990.
84. Pietrzyk RA, Jones JA, Sams CF, Whitson PA. Renal stone formation among astronauts. Aviat Space Environ Med. 2007;78(4):A9–13.
85. Hawkins WR, Zieglschmid JF. Clinical aspects of crew health. In: Johnston RS, Dietlein LF, Berry CA, editors. Biomedical results of Apollo. Washington, DC: U.S. Government Printing Office; 1975. p. 43–81. NASA SP-368.
86. Дегтярев В.А., Бедненко В.С., Габышев В.К. и др. Результаты электрокардиографических обследований экипажей "Салют-5" в полете // Космич. биология и авиакосмич. медицина. 1980. Т. 14, № 5. С.35-38.
87. Романов ЕМ., Артамонова Н.П., Голубчикова З.А. и др. Результаты длительных электрокардиографических наблюдений за космонавтами // Там же. 1987. Т. 21, № 6, С. 10-14.
88. Газенко О.Г., Григорьев А.И., Егоров А Д. Медицинские исследования по программе длительных пилотируемых полетов на орбитальном комплексе "Салют-7"—"Союз-Т" // Там же. 1990. Т. 24, № 2. С. 9-18.

89. Егоров А.Д. Квалификация реакций организма человека, развивающихся в условиях микрогравитации. //Авиакосмическая и экологическая медицина. 1996. №4. С. 14-20.
90. Wegmann H.M. Health risk and medical care considerations for the European space programm // III Nihon Univ, Intern.Symp. on aerospace science Tokyo, 1990. P. 49-54.
91. Nelson B., Gardner R., Osiler D. et al. Medical impact analysis for the space station //Aviat. Space and Environ. Med. 1990. Vol. 61, N 2.P.169-175.
92. Furukawa S., Buchanan P., Nicogossian A., Pool S. Medical support and technology for long duration space missions // Earth-Onent.Appl. Space Technol. 1983.Vol.3,N 314, P.203-209.
93. Van Loon J.J.W.A. Some history and use of the random positioning machine, RPM, in gravity related research.// Adv. Space Res. 2007. V.39. P. 1161.
94. Marco R., Lavan D.A., Van Loon J.J. et al. Drosophila melanogaster, a model system for comparative studies on the responses to real and simulated microgravity.// J. Gravit. Physiol. 2007. V.14. №1. P. 125.
95. Ulbrich C., Wehland M., Pietsch J. et. al. The impact of simulated and real microgravity on bone cells and mesenchymal stem cells.// Biomed. Res. Int. 2014. V. 2014. Article ID 928507 15 p
96. Villa A., Versari S., Maier J.A. et al. Cell behavior in simulated microgravity: a comparison of results obtained with RWV and RPM.// Gravit. Space Biol. Bull. 2005. V. 18. №2. P.89.
97. Hughes-Fulford M. Changes in gene expression and signal transduction in microgravity.// J. Gravit. Physiol. 2001. V. 8. №1. P. 257.
98. Романов Ю.А., Кабаева Н.В., Буравкова Л.Б. Изменение актинового цитоскелета и скорости репарации механически поврежденного монослоя эндотелия человека в условиях клиностатирования.// Авиакосмическая и экологическая медицина. 2001. Т.35. №1. С. 37.
99. Буравкова Л.Б., Мерзликина Н.В. Ремоделирование актинового цитоскелета культивируемых эндотелиальных клеток человека в условиях

- клиноостатирования// Авиакосмическая и экологическая медицина. 2004. Т.38. №6. С. 56.
100. Гершович П.М., Гершович Ю.Г., Буравкова Л.Б. Цитоскелет и адгезия культивируемых стромальных клеток-предшественников костного мозга человека при моделировании эффектов микрогравитации// Цитология. 2009. Т. 51. №11. С.896.
 101. Mills P.J., Perez C.J., Adler K.A. et. al. The effects of space flight on adrenergic receptors and agonists and cell adhesion molecule expression.// J. Neuroimmunol. 2002. V. 132.№1. P. 173.
 102. Jung C.K., Chung S., Lee Y.Y. et. al. Monocyte adhesion to endothelial cells increases with hind-limb unloading in rats// Aviat. Space Environ. Med. 2005. V. 76. №8. P. 720.
 103. Рудимов Е.Г., Буравкова Л.Б. Гравичувствительность эндотелия: роль цитоскелета и молекул адгезии.// Физиология человека. 2016. Т. 42. №6. С. 116-123.
 104. Гершович Ю.Г., Буравкова Л.Б. Продукция интерлейкинов в культуре мезенхимальных стромальных клеток человека при моделировании эффектов микрогравитации.// Авиакосмическая и экологическая медицина. 2009. Т.43. №3. С. 44-50.
 105. Рудимов Е.Г., Погодина М.В., Буравкова Л.Б. Влияние моделируемой микрогравитации на секреторную активность культивируемых эндотелиальных клеток человека.// Авиакосмическая и экологическая медицина. 2014. Т.48. №3. С. 30-35.
 106. Рудимов Е.Г., Буравков С.В., Андреева Е.Р., Буравкова Л.Б. Влияние провоспалительной активации на распределение F-актина культивируемых эндотелиальных клеток человека в условиях моделируемой микрогравитации.// Клеточные технологии в биологии и медицине. 2014. №4. С. 260-267.
 107. Ратушный А.Ю., Буравкова Л.Б. Функциональное состояние мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при моделировании

- эффектов микрогравитации.// Авиакосмическая и экологическая медицина. 2016. Т.50. №5. С. 24-29.
108. Thornton W.E., Hoffer G.W. Hemodynamic studies of the legs under weightlessness.//Biomedical results from Skylab. US gov. print. off., Wash. (D.C.): 1977. P. 324-329 (NASA; SP-377).
 109. Турчанинова В.Ф., Алферова И.В. Комплексное исследование динамики основных показателей сердечной деятельности, центрального и регионарного кровообращения в покое и при воздействии ОДНТ в условиях микрогравитации («Кардио-ОДНТ»). В кн.: Международная космическая станция. Российский сегмент. Т.2. Медико-биологические исследования на российском сегменте МКС, 2011. С. 56-71.
 110. Christ F., Gamble J., Baranov V. et al. Changes in microvascular fluid filtration capacity during 120 days of 6° head-down tilt.//Journal of Applied Physiology, 2001, Vol. 91, №6. P.2517-2522.
 111. Muller W.A. Leukocyte-endothelial cell interactions in the inflammatory response.//Lab. invest. 82:521, 2002
 112. Schmitt D. A. et al. Head-down tilt bed rest and immune responses //Pflügers Archiv. – 2000. – Т. 441. – №. 1. – С. R79-R84.
 113. Mann V. et al. Changes in Human Foetal Osteoblasts Exposed to the Random Positioning Machine and Bone Construct Tissue Engineering //International journal of molecular sciences. – 2019. – Т. 20. – №. 6. – С. 1357.
 114. Sonnenfeld G., Butel J. S., Shearer W. T. Effects of the space flight environment on the immune system //Reviews on environmental health. – 2003. – Т. 18. – №. 1. – С. 1-18.
 115. Sonnenfeld G. The immune system in space and microgravity //Medicine & Science in Sports & Exercise. – 2002. – Т. 34. – №. 12. – С. 2021-2027.
 116. Панченков Д. Н. и др. Биохимические аспекты влияния антиортостатической гипокинезии на течение экспериментального перитонита //Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2013. – №. 1. – С. 56-60.

117. Ларина И.М. Обмен белка во время и после длительного космического полета. Исследования метаболизма. Орбитальная станция «Мир». Том 2 /И.М. Ларина, Т.Р. Стейн, М.Дж. Лескив, М.Д. Шлутер. // М.: ГНЦ РФ-ИМБП РАН. – 2002. – С. 114-120.
118. Sokolovskaya A. A. et al. Effects of simulated microgravity on cell cycle in human endothelial cells //Acta astronautica. – 2014. – Т. 99. – С. 16-23.
119. Ratushnyy A. et al. Angiogenic activity of human adipose-derived mesenchymal stem cells under simulated microgravity //Stem cells and development. – 2018. – Т. 27. – №. 12. – С. 831-837.
120. Baatout S. et al. Growth of Endothelial Cells in Space and in Simulated Microgravity—a Comparison on the Secretory Level //Cellular Physiology and Biochemistry. – 2019. – Т. 52. – №. 5. – С. 1039-1060.
121. Grigoryan E. N., Radugina E. A. Behavior of stem-like cells, precursors for tissue regeneration in Urodela, under conditions of microgravity //Stem cells and development. – 2019. – Т. 28. – №. 7. – С. 423-437.
122. Radugina E. A. et al. Exposure to microgravity for 30 days onboard Bion M1 caused muscle atrophy and impaired regeneration in murine femoral Quadriceps //Life sciences in space research. – 2018. – Т. 16. – С. 18-25.
123. Поляков А.В. Исследование болевой чувствительности у человека в условиях космического полета (космический эксперимент «Альгометрия»). Медико-биологические эксперименты на борту российского сегмента Международной космической станции/А.В. Поляков, А.Р. Ниязов, И.В. Рукавишников//М.: ГНЦ РФ –ИМБП РАН. – 2021. – С. 88-91.
124. Chowdhury P. et al. Pressure hyperalgesia in hind limb suspended rats //Aviation, space, and environmental medicine. – 2011. – Т. 82. – №. 10. – С. 988-991.
125. Tanaka Y. et al. Hindlimb suspension does not influence mechanical sensitivity, epidermal thickness, and peripheral nerve density in the glabrous skin of the rat hind paw //Physiological Research. – 2013. – Т. 62. – №. 1. – С. 119.

126. Баранов М. В. и др. Изменения порога болевой реакции у крыс после 21-суточного вывешивания //Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2012. – Т. 46. – №. 4. – С. 53-55.
127. Решетняк В.К., Кукушкин М.Л., Гурко Н.С. Значение корково-подкорковых структур мозга в восприятии острой и хронической боли. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2014; 58(4): 96-110.
128. Erpelding N., Moayed M., Davis K.D. Cortical thickness correlates of pain and temperature sensitivity. Pain. 2012; 153:1602-9.
129. Богданов А. И., Ярушкина Н. И. Роль гормонов гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы в анальгетическом эффекте кортикотропин-рилизинг гормона //Российский физиологический журнал им. ИМ Сеченова. – 2006. – Т. 92. – №. 2. – С. 262-271.
130. Marshall-Goebel K., Damani R., Bershad E. M. Brain physiological response and adaptation during spaceflight //Neurosurgery. – 2019. – Т. 85. – №. 5. – С. E815-E821.
131. Носков В. Б. Механизмы волюморегуляции при действии факторов космического полета //Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2000. – Т. 34. – №. 4. – С. 3-8.
132. Lee A. G. et al. Space flight-associated neuro-ocular syndrome (SANS) //Eye. – 2018. – Т. 32. – №. 7. – С. 1164-1167.
133. Haider T. et al. Effects of long-term head-down-tilt bed rest and different training regimes on the coagulation system of healthy men //Physiological reports. – 2013. – Т. 1. – №. 6.
134. Kuzichkin D. S. et al. Effect of dehydration and blood substitute infusion on the hemostasis system in a 21-hour bed rest experiment //Human Physiology. – 2011. – Т. 37. – №. 7. – С. 846-850.
135. Кузичкин Д. С. и др. Система гемостаза человека после космического полета. В кн.: Международная космическая станция. Российский сегмент.

Том 2. Медико-биологические исследования на российском сегменте МКС. – Москва, 2011. – С. 222-227.

136. Dai K. et al. Effects of microgravity and hypergravity on platelet functions //Thrombosis and haemostasis. – 2009. – Т. 101. – №. 05. – С. 902-910.
137. Delp M. D. et al. Apollo lunar astronauts show higher cardiovascular disease mortality: possible deep space radiation effects on the vascular endothelium //Scientific reports. – 2016. – Т. 6. – С. 29901.
138. Ghosh P. et al. Effects of high-LET radiation exposure and hindlimb unloading on skeletal muscle resistance artery vasomotor properties and cancellous bone microarchitecture in mice //Radiation research. – 2016. – Т. 185. – №. 3. – С. 257-266.
139. Prisby R. D. et al. Effects of hindlimb unloading and ionizing radiation on skeletal muscle resistance artery vasodilation and its relation to cancellous bone in mice //American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 2015.
140. Носков В. Б. Водно-солевой гомеостаз и система гормональной волюморегуляции при космических полетах на ОС «Мир» //М.: ГИЦ РФ ИМБП РАН. – 2002. – Т. 2. – С. 121-136.
141. Баранов В. М. Физиологический анализ возможных причин гипоксемии в невесомости //Физиология человека. – 2011. – Т. 37. – №. 4. – С. 72-78.
142. Воскресенский А.Д., Егоров Б.Б., Пестов И.Д. и др. Эксперименты по 30-ти суточной гипокинезии с применением средств профилактики. Организация экспериментов и общее состояние испытуемых.//Космическая биология и медицина, №4, 1972, С. 28-32
143. Баранов М.В., Катунцев В.П., Шпаков А.В., Баранов В.М. Метод наземного моделирования физиологических эффектов пребывания человека в условиях гипогравитации // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. Т. 160. № 9. С. 392-396.
144. Баранов М.В., Шпаков А.В., Кузовлев О.П., Катунцев В.П., Баранов В.М. ФГБУ ФНКЦ ФМБА России. Способ моделирования физиологических

эффектов пребывания на поверхности планет с пониженным уровнем гравитации. Патент на изобретение RU 2529813 С1. Заявлен: 13.08.2013. Опубликовано: 27.09.2014

145. Navasiolava N.M., Custaud M.A., Tomilovskaya E.S. et al. Long-term dry immersion: review and prospects. *European Journal of Applied Physiology*. 2011. Т. 111. № 7. Р. 1235-1260.
146. Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in stereotaxic coordinates*. // 6th edition “Published by Elsevier Inc. 2007.
147. Watson B.D., Dietrich W.D., Busto R. et al. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis.// *Ann Neurol.*- 1985.- V.17.- Р. 497-504
148. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. Р.// Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения.- М: Высш. шк. – 1991.- 399с.
149. Пальцын А.А., Константинова Н.Б. Метод окрашивания полутонких срезов ткани мозга. *БЭБиМ*, 2009, №5, с. 598-600.
150. Morey E. R. Space flight and bone turnover: correlation with a new rat model of weightlessness // *Bioscience*. 1979. V.29 №1. Р. 611-615.
151. Ильин Е. А., Новиков В.Е. Стенд для моделирования физиологических эффектов невесомости в лабораторных экспериментах с крысами // *Косм. биол.* 1980. Т.14. №3. С. 79-80.
152. Shi M., Wang J. Y., Luo F. Depression shows divergent effects on evoked and spontaneous pain behaviors in rats // *The Journal of Pain*. – 2010. – Т. 11. – №. 3. – С. 219-229.
153. Pinto-Ribeiro F. et al. Chronic unpredictable stress inhibits nociception in male rats // *Neuroscience letters*. – 2004. – Т. 359. – №. 1-2. – С. 73-76.
154. Imbe H., Iwai-Liao Y., Senba E. Stress-induced hyperalgesia: animal models and putative mechanisms // *Front Biosci*. – 2006. – Т. 11. – С. 2179-2192.
155. Watkins L. R., Mayer D. J. Organization of endogenous opiate and nonopiate pain control systems // *Science*. – 1982. – Т. 216. – №. 4551. – С. 1185-1192.

156. Oliveras J. L., Besson J. M. Stimulation-produced analgesia in animals: behavioural investigations //Progress in brain research. – Elsevier, 1988. – Т. 77. – С. 141-157.
157. Ярушкина Н.И. Роль гормонов гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы в регуляции болевой чувствительности.// Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2007. Т.93. №11. С. 1252-1262.
158. Португалов В. В. Морфологические и цитохимические исследования на биоспутнике «Космос-782» //Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1977. – №. 7. – С. 5-20.
159. Тихонова Г.П., Бизин Ю.П. Морфоцитохимическая реакция надпочечников и тимиколимфатического аппарата крыс на выведение их из состояния гипокинезии.// Косм. биол. и авиакосм. мед. 1974. Т.8. №5. С. 27-30.
160. Краснов И. Б., Гулевская Т.С., Моргунов В.А. Морфология сосудов и сосудистого сплетения мозга крыс после 93-суточного моделирования эффектов невесомости //Авиакосм. и эколог. мед. 2005. т. 39. № 1. с. 32-36.
161. Степанова С.И. Биоритмологические аспекты проблемы адаптации. Москва: «Наука»; 1986. 244 с.
162. Lampert D.H. Rhythmische Reizbarkeitsanderung des Organismus und ihre Bedeutung fur die Krankenbehandlung. – In: Verh.3. Konf. Intern. Ges biol. Rhythmus-Forschung. Stockholm, 1953: 141-144.
163. Греннер Д. Гормоны коры надпочечников. В кн.: Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В., ред. Биохимия человека. Москва: «Мир»; 1993, 2: 205-220.
164. Khan S.A., Keaser M.L., Meiller N.F., Seminowcz D.A. Altered structure and function in the hippocampus and medial prefrontal cortex in patients with burning mous syndrome. Pain. 2014; 155: 1472-80.
165. Крупина Т.Н., Михайловская Г.П., Тизул А.Я. и др. В кн.: Адаптация к мышечной деятельности и гипокинезии. Новосибирск, 1970: 94-96.

166. Крупина Т.Н., Тизул А.Я., Баранова В.П. и др. В кн.: Адаптация к мышечной деятельности и гипокинезии. Новосибирск, 1970: 96-98.
167. Nastassia M. Navasiolova, Marc-Antoine Custaud, Elena S. Tomilovskaya et. al. Long-term dry immersion: review and prospects. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2011; 111: 1235-1260.
168. Решетняк В.К. Взаимовлияние боли и сна. *Российский журнал боли.* 2013, 2: 42-48.
169. Заварзин А.А., Румянцев А.В. Курс гистологии. 6-е изд. М.: МЕДГИЗ. 1946; 723.
170. Смирнов К.В., Уголев А.М. Космическая гастроэнтерология. М.: Наука, 1981. 277 с.
171. Смирнов К. В. Пищеварение и гипокинезия. М.: Медицина, 1990. 224 с.
172. Логинов А.С., Аруин Л.И., Бродский Р.А. и др. Морфологические изменения органов пищеварения при длительном космическом полете на биоспутнике «Космос-782» // *Арх. патологии.* 1978. Т. 40, № 9. С. 39 – 47.
173. Поляков В.В., Смирнов К.В., Бедненко В.С. и др. Комплексная оценка функций желудочно-кишечного тракта во время космического полета // *Материалы IX Всесоюз. Конф. по космич. Биологии и авиакосмич. медицине.* Калуга, 1990. С. 161-162.
174. Fowler JF. Physiological changes during space flight.// *Cutis.* 1991. Vol. 48. P. 291-295.
175. Nicogossian MC, Sawin CF, Huntoon CL. Overall physiologic response to space flight. In: Nicogossian AE, Huntoon CL, Pool SL, eds. *Space Physiology and Medicine.* 3rd ed. Philadelphia, Pa: Lea & Febiger; 1994:213-228.
176. Пальцын А.А., Колокольчикова Е.Г., Константинова Н.Б., Романова Г.А., Шакова Ф.М., Кубатиев А.А. Образование гетерокарионов как способ регенерации нейронов при постишемическом повреждении мозга у крыс. *БЭБиМ,* 2008, №10, с. 467-470.

177. Пальцын А.А., Константинова Н.Б., Романова Г.А., Шакова Ф.М., Квашенникова Ю.Н., Кубатиев А.А. Роль слияния клеток в физиологической и репаративной регенерации коры головного мозга. БЭБиМ, 2009, №11, с.580-583.
178. Краснов И.Б., Гулевская Т.С., Моргунов В.А. Морфология сосудов и сосудистого сплетения мозга крыс после 93-суточного моделирования эффектов невесомости. // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2005. Т. 39. №1. С. 32-36.
179. Gabrion J., Maurel D., Clavel B. et al. Changes in apical organization of choroidal cells in rats adapted to spaceflight or head-down tilt. // Brain Res. 1996. V. 734. P. 301-315.
180. Баранов В.М., Катунцев В.П., Тарасенков Г.Г., Худякова Е.П., Седелкова В.А., Алферова И.В., Шушунова Т.Г. Изучение активности центрального дыхательного механизма в условиях длительного космического полета. // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2022. Т. 56. №3. С. 5-11.
181. Johnston S. L., Smart K. T., Pattarini J. M. Medical evacuation risk and crew transport //Principles of Clinical Medicine for Space Flight. – 2019. – С. 327-353.
182. Воробьев Л. В. Укороченный PQ, акценты ЭКГ диагностики //Современные наукоемкие технологии. – 2013. – №. 11. – С. 152-156.
183. Орлов В. Н. Руководство по электрокардиографии. – Издательство "Медицинское информационное агентство", 2017. – 560 с.
184. Indik J. H. et al. Bazett and Fridericia QT correction formulas interfere with measurement of drug-induced changes in QT interval //Heart rhythm. – 2006. – Т. 3. – №. 9. – С. 1003-1007.
185. Крыжановский С. А. и др. К возможности использования эхокардиографии для оценки этапов формирования алкогольной кардиомиопатии //Физиология человека. – 2014. – Т. 40. – №. 1. – С. 122-122.

186. Пономарев С. А. и др. Состояние системы врожденного иммунитета человека в условиях 5-суточной "сухой" иммерсии //Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2011. – Т. 45. – №. 3. – С. 17-23.
187. Rosalki S.B., Roberts R., Katus H.A., Giannitis T., Ladenson J.H. Cardiac biomarkers for detection of myocardial infarction: perspectives from past to present// Clinical Chemistry, 2004,50:11, p.2205-2213.
188. Erickson H. P. - Size and Shape of Protein Molecules at the Nanometer Level Determined by Sedimentation, Gel Filtration, and Electron Microscopy. - Biological Procedures Online, 2009, Volume 11, Number 1, P.32-51. DOI: 10.1007/s12575-009-9008-x.
189. Шалаев С.В., Петрик С.Е., Панин А.В. Тропонины в кардиологической практике// Пособие для врачей. - 2000 г. 18 с.
190. Каверина Н.В., Чичканов Г.Г., Цорин И.Б., Кирсанова Г.Ю. Влияние активации симпатической нервной системы на противофибрилляторное действие антиаритмических средств I класса // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2004. – Т. 67, № 5. – С. 17-18.
191. Середенин С.Б., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Столярук В.Н., Чичканов Г.Г., Крыжановский С.А. К механизму противоишемического действия препарата “Афобазол”// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2013, Том 155, № 6723-727.
192. Yamamoto S., Matsui K., Sasabe M., Ohashi N. Effect of an Orally Active Na⁺/H⁺ Exchange Inhibitor, SMP-300, on Experimental Angina and Myocardial Infarction Models in Rats // Journal of Cardiovascular Pharmacolog. – 2002. - № 39. – С. 234-241.
193. Мазитов Т.М., Нигматуллина Р.Р., Исламов Р.Р. Морфофункциональные показатели левого желудочка сердца крыс в изопротеренол-флуоксетиновой модели хронической сердечной недостаточности // Успехи современного естествознания №6, 2013 С. 44-49.

194. Гурова Н.А., Харитонов М.В., Паньшин Н.Г., Сорокин С.М. Моделирование изопротерениловой ишемии миокарда у крыс // Волгоградский научно-медицинский журнал. - 2012. - № 2. - С. 51-54.
195. Капелько В.И., Лакомкин В.Л., Лукошкова Е.В., Грамович В.В., Выборов О.Н., Абрамов А.А., Ундровинас Н.А., Ермишкин В.В., Лакомкин С.В., Веселова С.П., Жданов В.С., Ширинский В.П. Комплексное исследование сердца крыс при поражении изопротеренолом // Кардиология (kardiologiia). – 2014. – № 3. – С. 56-56.
196. Лакомкин В.Л., Абрамов А.А., Лукошкова Е.В., Лакомкин С.В., Грамович В.В., Выборов О.Н., Ундровинас Н.А., Ермишкин В.В., Цыплёнова В.Г., Ширинский В.П., Капелько В.И. Действие апелина-12 и его аналога на гемодинамику и сократительную функцию сердца крыс с изопротереноловым поражением миокарда // Кардиология. – 2015. – Т.6, № 55. – С. 54-66.
197. Katare P.B., Bagul P.K., Dinda A.K., Banerjee S.K. Toll-like receptor 4 inhibition improves Oxidative stress and Mitochondrial health in isoproterenol-induced cardiac hypertrophy in rats // Ind J Clin Biochem. 2015. – 30(1):27–34
198. Sun R., Zhu B., Xiong K., Sun Y., Shi D., Chen L., Zhang Y., Li Z., Xue L. Senescence as a novel mechanism involved in β -adrenergic receptor mediated cardiac hypertrophy // PLoS One. 2017 Aug 4;12(8)
199. Khatua T.N., Borkar R.M., Mohammed S. A., Dinda A. K., Srinivas R., Banerjee S. K. Novel Sulfur Metabolites of Garlic Attenuate Cardiac Hypertrophy and Remodeling through Induction of Na^+/K^+ -ATPase Expression//Front Pharmacol. 2017; 8: 18.
200. Jana S., Patel D., Patel S., Upadhyay K., Thadani J., Mandal R., et al. Anthocyanin rich extract of Brassica oleracea L. Alleviates experimentally induced myocardial infarction // PLoS ONE. - 2017. - Vol. 12(8): e0182137.
201. Богус С.К., Абрамочкин Д.В., Зеленская А.В., Суздалев К.Ф., Галенко-Ярошевский П.А. Влияние соединения SS-68 на электрофизиологические эффекты адреномиметиков в правом предсердии

- крысы // Кубанский Научный Медицинский Вестник. – 2017. - № 2 (163). – С. 24-29.
202. Shukla S.K., Sharma S.B., Singh U.R. b-Adrenoreceptor Agonist Isoproterenol Alters Oxidative Status, Inflammatory Signaling, Injury Markers and Apoptotic Cell Death in Myocardium of Rats // Ind. J. Clin. Biochem. - 2015. Vol. 30(1). - P. 27–34.
 203. Brady S., York M., Scudamore C., Williams T., Griffiths W., Turton J. Cardiac troponin I in isoproterenol-induced cardiac injury in the Hanover Wistar rat: studies on low dose levels and routes of administration // Toxicol. Pathol. – 2010/ - Vol. 38(2). – P. 287-291. doi: 10.1177/0192623309357948
 204. Goldstein M.A., Cheng J., Schroeter J.P. The effects of increased gravity and microgravity on cardiac morphology // Aviat. Space Environ Med. – 1998. -№69(6 Suppl). – P. A12-6.
 205. Liu, H., Xie, Q., Xin, B. M., Liu, J. L., Liu, Y., Li, Y. Z., and Wang, J. P. Inhibition of autophagy recovers cardiac dysfunction and atrophy in response to tail-suspension // Life Sci. – 2015. - №121. – P. 1–9. – DOI: 10.1016/j.lfs.2014.10.023.
 206. Daniel C Hatton 1, Qi Yue, Jacqueline Dierickx, Chantal Rouillet, Keiichi Otsuka, Mitsuaki Watanabe, Sarah Coste, Jean Baptiste Rouillet, Thongchan Phanouvang, Eric Orwoll, Shiela Orwoll, David A McCarron. Calcium metabolism and cardiovascular function after spaceflight // J Appl Physiol. - 1985- 2002 Jan. - №92(1). – P. 3-12. - DOI: 10.1152/jappl.2002.92.1.3.
 207. Хижняк Е. В. Оценка риска развития осложнений у больных с острым инфарктом миокарда на основании исследования субфракционного состава сыворотки крови посредством лазерной корреляционной спектроскопии в сравнении с определением уровня тропонина I. // Медицина неотложных состояний. - 2008. - № 4. - С. 17–24.
 208. Баранов В. М., Попова Ю.А., Ковалев А.С., Баранов М.В. Изменения чувствительности центрального дыхательного механизма в условиях 21-

- часовой антиортостатической гипокинезии //Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2011. – Т. 45. – №. 4. – С. 35-38.
209. Баранов В. М., Катунцев В.П., Тарасенков Г.Г., Худякова Е.П., Алферова И.В., Шушунова Т.Г. Изучение активности центрального дыхательного механизма в условиях длительного космического полета// Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2022. – Т. 56. – №. 3. – С. 5-11.
210. Атьков О. Ю., Бедненко В. С. Гипокинезия. Невесомость: Клинические и физиологические аспекты. – Федеральное государственное унитарное предприятие Академический научно-издательский, производственно-полиграфический и книгораспространительский центр Наука, 1989. – 303 с.

	N набл.	Среднее	Доверит. -95,0%	Доверит. +95,0%	Медиана	Нижний Квартиль	Верхний Квартиль	Стд.откл.	Станд. Ошибка	р-уров.
Влияние 12-ти часовой АНОГ										
Парциальное напряжение кислорода в верхних конечностях (мм рт.ст.)										
1 серия, капилляр, рука										
Фон	24	76,0	72,6	79,3	76,5	69,5	80,5	8,0	1,6	0,15
Утро	24	73,2	69,7	76,6	73,0	67,0	79,5	8,2	1,7	
2 серия, капилляр, рука										
Фон	19	74,6	70,6	78,7	73,0	67,0	80,0	8,4	1,9	0,57
Утро	19	76,9	72,2	81,7	77,0	70,0	84,0	9,8	2,2	
1 серия, вена, рука										
Фон	24	36,0	31,4	40,6	32,5	27,5	43,5	10,9	2,2	0,41
Утро	24	36,7	33,9	39,4	37,0	33,5	40,0	6,5	1,3	
2 серия, вена, рука										
Фон	18	40,5	35,2	45,8	38,0	32,0	50,0	10,6	2,5	0,98
Утро	19	41,3	35,4	47,1	41,0	33,0	44,0	12,2	2,8	
Парциальное напряжение кислорода в нижних конечностях (мм рт.ст.)										
1 серия, капилляр, нога										
Фон	24	63,4	60,8	65,9	63,5	59,5	66,0	6,1	1,2	0,75
Утро	24	62,8	59,9	65,8	62,0	57,5	66,5	7,0	1,4	
2 серия, капилляр, нога										
Фон	19	62,6	59,9	65,3	63,0	58,0	68,0	5,6	1,3	0,03
Утро	17	67,6	63,6	71,6	67,0	65,0	70,0	7,8	1,9	
1 серия, вена, нога										
Фон	22	45,5	41,0	50,0	42,0	39,0	51,0	10,2	2,2	0,77
Утро	21	43,6	38,6	48,6	43,0	36,0	54,0	11,0	2,4	
2 серия, вена, нога										
Фон	17	46,4	39,5	53,3	45,0	38,0	53,0	13,5	3,3	0,19
Утро	19	41,9	36,7	47,2	45,0	32,0	49,0	10,9	2,5	
Парциальное напряжение углекислого газа в верхних конечностях (мм рт.ст.)										
1 серия, капилляр, рука										
Фон	24	38,0	36,5	39,6	38,5	34,0	41,0	3,6	0,7	0,00
Утро	24	41,7	39,9	43,4	42,0	38,0	45,0	4,1	0,8	
2 серия, капилляр, рука										
Фон	19	39,4	38,5	40,4	39,0	38,0	41,0	2,0	0,5	0,01
Утро	19	41,3	40,0	42,6	42,0	39,0	43,0	2,7	0,6	
1 серия, вена, рука										
Фон	24	51,4	48,3	54,5	51,5	44,5	56,0	7,3	1,5	0,73
Утро	24	50,8	49,2	52,4	51,0	49,0	53,0	3,7	0,8	
2 серия, вена, рука										
Фон	18	49,8	47,0	52,5	49,5	46,0	52,0	5,5	1,3	0,01
Утро	19	53,4	50,3	56,6	56,0	48,0	58,0	6,5	1,5	
Парциальное напряжение углекислого газа в нижних конечностях (мм рт.ст.)										
1 серия, капилляр, нога										
Фон	24	39,7	38,4	41,0	40,0	37,5	41,5	3,1	0,6	0,03
Утро	24	41,6	39,8	43,4	41,5	38,0	45,0	4,2	0,9	
2 серия, капилляр, нога										
Фон	19	39,4	37,9	40,9	40,0	36,0	42,0	3,2	0,7	0,34
Утро	17	40,6	38,0	43,3	40,0	37,0	45,0	5,1	1,2	
1 серия, вена, нога										
Фон	24	46,5	44,6	48,4	46,5	43,0	50,0	4,4	0,9	0,00
Утро	23	49,5	47,1	52,0	50,0	45,0	54,0	5,6	1,2	
2 серия, вена, нога										
Фон	18	46,9	45,0	48,9	47,0	44,0	48,0	3,9	0,9	0,00
Утро	19	51,4	49,0	53,8	51,0	49,0	54,0	5,0	1,1	
Влияние дополнительной потери жидкости (диуретик)										
Парциальное напряжение кислорода в верхних конечностях (мм рт.ст.)										

1 серия, капилляр, рука										
Утро	24	73,2	69,7	76,6	73,0	67,0	79,5	8,2	1,7	0,99
День	23	74,2	70,7	77,7	74,0	68,0	80,0	8,1	1,7	
2 серия, капилляр, рука										
Утро	19	76,9	72,2	81,7	77,0	70,0	84,0	9,8	2,2	0,79
День	19	77,3	73,2	81,3	77,0	71,0	80,0	8,4	1,9	
1 серия, вена, рука										
Утро	24	36,7	33,9	39,4	37,0	33,5	40,0	6,5	1,3	0,00
День	24	49,3	44,1	54,5	46,0	39,5	58,5	12,2	2,5	
2 серия, вена, рука										
Утро	19	41,3	35,4	47,1	41,0	33,0	44,0	12,2	2,8	0,04
День	19	48,6	42,8	54,5	46,0	40,0	59,0	12,2	2,8	
Парциальное напряжение кислорода в нижних конечностях (мм рт.ст.)										
1 серия, капилляр, нога										
Утро	24	62,8	59,9	65,8	62,0	57,5	66,5	7,0	1,4	0,16
День	24	59,8	56,6	63,1	58,5	55,0	61,5	7,6	1,6	
2 серия, капилляр, нога										
Утро	17	67,6	63,6	71,6	67,0	65,0	70,0	7,8	1,9	0,17
День	19	64,9	61,2	68,7	63,0	58,0	71,0	7,7	1,8	
1 серия, вена, нога										
Утро	21	43,6	38,6	48,6	43,0	36,0	54,0	11,0	2,4	0,30
День	23	45,9	42,8	48,9	47,0	39,0	50,0	7,1	1,5	
2 серия, вена, нога										
Утро	19	41,9	36,7	47,2	45,0	32,0	49,0	10,9	2,5	0,07
День	19	49,6	43,7	55,5	51,0	41,0	58,0	12,2	2,8	
Парциальное напряжение углекислого газа в верхних конечностях (мм рт.ст.)										
1 серия, капилляр, рука										
Утро	24	41,7	39,9	43,4	42,0	38,0	45,0	4,1	0,8	0,01
День	24	39,6	38,2	41,0	38,5	37,0	42,5	3,3	0,7	
2 серия, капилляр, рука										
Утро	19	41,3	40,0	42,6	42,0	39,0	43,0	2,7	0,6	0,62
День	19	41,1	39,6	42,6	42,0	40,0	43,0	3,1	0,7	
1 серия, вена, рука										
Утро	24	50,8	49,2	52,4	51,0	49,0	53,0	3,7	0,8	0,00
День	24	45,6	43,7	47,4	45,0	44,0	48,5	4,3	0,9	
2 серия, вена, рука										
Утро	19	53,4	50,3	56,6	56,0	48,0	58,0	6,5	1,5	0,00
День	19	48,2	46,5	49,8	48,0	46,0	51,0	3,4	0,8	
Парциальное напряжение углекислого газа в нижних конечностях (мм рт.ст.)										
1 серия, капилляр, нога										
Утро	24	41,6	39,8	43,4	41,5	38,0	45,0	4,2	0,9	0,62
День	24	41,3	39,6	43,1	41,0	38,5	44,0	4,1	0,8	
2 серия, капилляр, нога										
Утро	17	40,6	38,0	43,3	40,0	37,0	45,0	5,1	1,2	0,42
День	19	42,4	40,6	44,2	42,0	40,0	46,0	3,8	0,9	
1 серия, вена, нога										
Утро	23	49,5	47,1	52,0	50,0	45,0	54,0	5,6	1,2	0,24
День	24	48,4	46,1	50,6	47,0	46,0	52,0	5,3	1,1	
2 серия, вена, нога										
Утро	19	51,4	49,0	53,8	51,0	49,0	54,0	5,0	1,1	0,01
День	19	47,6	45,1	50,2	47,0	43,0	53,0	5,3	1,2	