На правах рукописи

Баранов Михаил Викторович

ОСОБЕННОСТИ ТИПОВЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЭФФЕКТОВ МИКРОГРАВИТАЦИИ

Специальность: 3.3.7 – Авиационная, космическая и морская медицина

Автореферат диссертации на соискание учёной степени
доктора медицинских наук

Москва – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Государственном научном центре Российской Федерации – Институте медико-биологических проблем Российской академии наук (ГНЦ РФ – ИМБП РАН).

Научный консультант:

Богомолов Валерий Владимирович, доктор медицинских наук

Официальные оппоненты:

Бухтияров Игорь Валентинович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова» Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

Горохова Светлана Георгиевна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры профпатологии и производственной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения Российской Федерации

Брындина Ирина Георгиевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической физиологии и иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования "Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова" Министерства обороны Российской Федерации

Защита диссертации состоится «____»_____ 2024 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.023.01 в ГНЦ РФ – ИМБП РАН по адресу 123007, г. Москва, Хорошевское шоссе, д. 76а.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНЦ РФ – ИМБП РАН и на сайте http://www.imbp.ru/WebPages/win1251/ScienceN/DisserSov/Baranov2024/Baranov.html

Автореферат разослан «____» _____ 2024 г.

Учёный секретарь диссертационного совета,

кандидат биологических наук С.В. Поддубко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

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.

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 (1982), а более поздние данные представлены специалистами ГНЦ РФ ИМБП РАН и ЦПК им. Ю.А. Гагарина (Гончаров И.Б., Ковачевич И.В., Жернавков А.Ф. 2001).

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.

Цель настоящей работы – 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.

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.

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, формулировании цели и задач данной работы, планировании и подготовке экспериментов. При проведении экспериментальных работ с участием испытателей-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.

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).

Эксперименты с участием испытателей-добровольцев.

В качестве модели микро- и гипогравитации у человека использовали антиортостатическую и ортостатическую гипокинезию.

Антиортостатическая гипокинезия (АНОГ) является классической моделью микрогравитации, получившей неоднократное подтверждение при сравнении с полетными данными. 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.

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°. В остальном режим пребывания в ОГ схож с условиями пребывания в АНОГ.

Помимо гипокинезии, микрогравитацию моделировали с использованием модели «сухой иммерсии» (СИ). 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°С) до уровня шеи.. Длительность СИ составляла в наших исследованиях 21 час.

Общее описание экспериментов с участием испытателей-добровольцев представлена в таблице 1.

Таблица 1. Общее описание экспериментов с участием испытателей-добровольцев:

Основное воздействие	Дополнительное воздействие	Продолжительность	Количество обследованных
АНОГ -15°		21 час	8
АНОГ -15°	Гиповолемия	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

Методики исследования в экспериментах с участием испытателей-добровольцев.

1. Оценка порогов болевой чувствительности.

Болевую чувствительность исследовали по методу «горячей пластины». Для определения порога болевой чувствительности обследуемому прикладывали нагреваемую пластину прибора к внутренней поверхности предплечья. Пластина равномерно нагревается от 20° С со скоростью 5,5° С/мин. При появлении болевых ощущений испытатель фиксировал температуру, которая являлась порогом болевой чувствительности (ПЧ). Нагрев пластины продолжали до момента, когда по мнению испытателя, болевые ощущения становились достаточно сильными, требующими немедленного прекращения обследования. Фиксируемая температура является порогом болевой переносимости (ПП).

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»

3. Анализ газового состава крови.

Метод используется для оценки изменений в газовом составе крови. Для проведения данной методики исследования производили взятие капиллярной и венозной крови. Для анализа газового состава крови использовали величину напряжения углекислого газа (pCO_2, мм рт.ст.) и кислорода (pO_2, мм рт.ст.)

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

Для оценки степени гиповолемии по регионам использовали импедансную реографию (российский прибор «АВС-01», компании «Медасс»). Оценивали перераспределение жидкости в следующих жидкостных компартментах: внеклеточная жидкость (ВКЖ), клеточная жидкость (КЖ) и общая жидкость (ОЖ).

Экспериментальные исследования на крысах.

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

Конкретные условия экспериментов указаны в соответствующих разделах. Общее описание условий экспериментов на крысах и дополнительные воздействия указаны в таблице 2.

Таблица 2. 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

Методики исследования в экспериментах на крысах.

1. Методика индукции перитонита у крыс.

Под наркозом выполняли срединную лапаротомию, продольное сечение толстой кишки на протяжении 0,5см. 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. 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 (Watson B.D. et al.1985). 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.

3. Методика формирования геморрагического некроза/травмы головного мозга крысы.

Животным под эфирным наркозом рассекали кожу по средней линии головы, в операционном поле удаляли надкостницу. Трансплантат, вводили в моторную зону коры левого полушария мозга, в участок, ответственный за движение правой передней лапы (поле S1FL) Состав трансплантата: измельченная гемостатическая коллагеновая губка и не содержащая клеток плазма крови кролика породы «шиншилла», либо богатая тромбоцитами плазма (PRP) крови кролика.

4. Методика оценки когнитивных функций мозга крыс.

Когнитивные функции мозга крыс исследовали, вырабатывая у них условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ) (Буреш Я., Бурешова О. и др. 1991). Устойчивость УРПИ определяли, так называемым, латентным периодом (ЛП). УРПИ считали выработанным, если ЛП составлял не менее 300 с. До начала выработки УРПИ оценивать двигательную активность крыс в «открытом поле» за 5 минут наблюдения. По показателям двигательной активности в «открытом поле» формировали идентичные группы.

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 на установке «Beam walking» для крыс (ООО «НПК Открытая Наука»).

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 авторадиографическое исследование.

Проводили клинический и биохимический анализы крови.

Для морфологического исследования экспериментальных животных при перитоните препараты просматривали в световом микроскопе фирмы Olympus (Япония) под различными увеличениями, изображения регистрировали фотокамерой Color View II с программой компьютерного анализа Cell F.

7. Методика формирования острого инфаркта миокарда у крыс.

Для моделирования острого инфаркта миокарда использовали две модели: моделирование методом коронарной окклюзии и введением изопротеринола.

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

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

ОСОБЕННОСТИ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭФФЕКТОВ МИКРОГРАВИТАЦИИ

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

Болевая чувствительность в условиях моделирования микрогравитации у лабораторных животных.

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 (Ильин Е. А., Новиков В.Е. 1980). 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. Для оценки различий показателя болевой чувствительности между группами на различных этапах исследований использовали непараметрический критерий Манна-Уитни для независимых выборок.

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 2ºС, а в реадаптационном периоде через 7 суток после завершения АОВ не просто снизился до фоновых значений, но оказался ниже фона (рисунок 1А).

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 1Б).

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

К центральным механизмам относится стрессиндуцированная анальгезия. Ранее было продемонстрировано, что как условия космического полета, так и модельные эксперименты на животных (хвостовое вывешивание) приводят к развитию всех проявлений стрессорной реакции (Португалов В.В. 1977, Тихонова Г.П., Бизин Ю.П. 1974).

На наличие острого стресса у животных в нашем исследовании указывает появление геморрагий 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±18,7 и 322,3±16,3 гр.

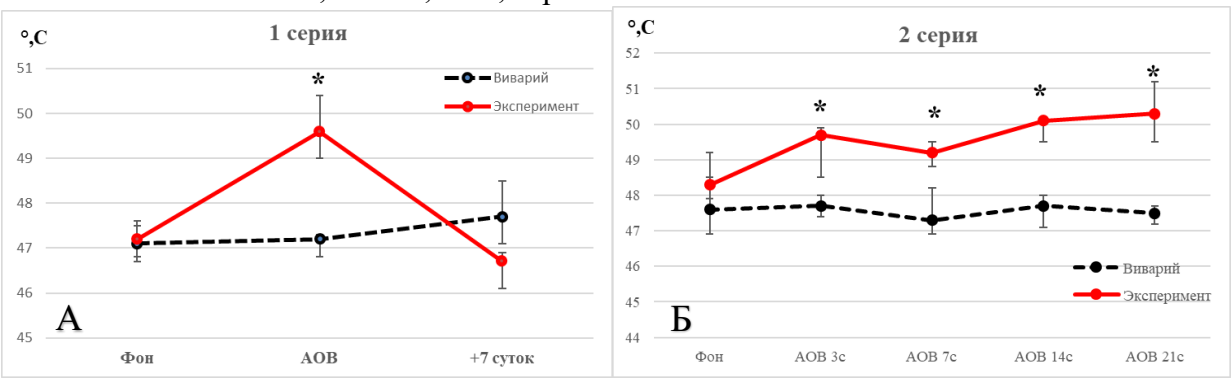


Рисунок 1. Динамика значений ПБР в 1-й экспериментальной серии (А) и 2-й экспериментальной серии (Б). * - статистически значимые отличия по сравнению с показателем в группе виварийного контроля в той же точке ($p<0,05$).

Также нельзя было исключать, изменения мозгового кровотока, имеющие место в АОВ, как один из возможных факторов, влияющих на центральные структуры ноцицептивной системы, и изменяющих восприятие болевых импульсов.

Болевая чувствительность в условиях моделирования микрогравитации у человека.

Исследование проводили с участием 40 испытателей-добровольцев, мужского пола, 20-35 лет. В качестве моделей микрогравитации использовали антиортостатическую гипокинезию (АНОГ) с углом -15º 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. Для оценки статистической значимости отличий между выборками данных использовали непараметрический критерий Манна-Уитни для независимых выборок.

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 2).

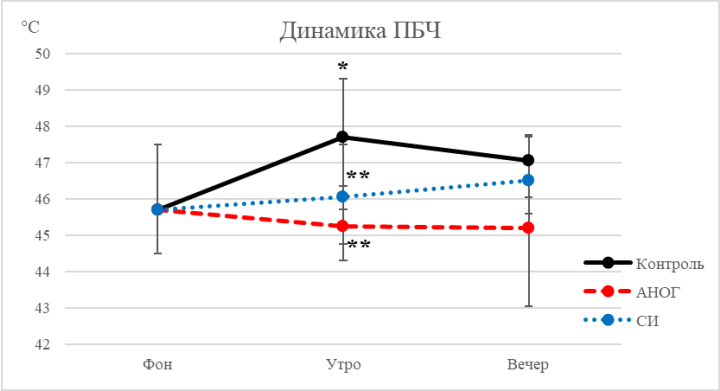


Рисунок 2. Динамика изменения ПБЧ (медиана, квартили 25%-75%), * - статистически значимые изменения по сравнению с фоном (p<0,05), ** - статистически значимые изменения по сравнению с контрольной группой (p<0,05).

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 исследованиях (Lampert D.H. 1953) показано, что температуру 42º (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. Возможно, это связано с суточными колебаниями секреции кортикотропин-рилизинг-гормона (КРГ), а следовательно и адренокортикотропного гормона (АКТГ). 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 (Греннер Д. 1993). 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.

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

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 испытателей 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°, 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 ПБП. После фиксации испытателем величины ПБЧ, горячую пластину не убирали, температура нарастала и пластину убирали, когда испытатель оценивал боль, как нестерпимую. Для безопасности испытателей максимальную температуру нагрева устанавливали на 50°С.

На 5 сутки АНОГ -6°, мы видим схожую динамику как ПБЧ, так и ПБП у испытателей. Разница между утренними и вечерними значениями порогов болевой чувствительности исчезает (рисунок 3), 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).

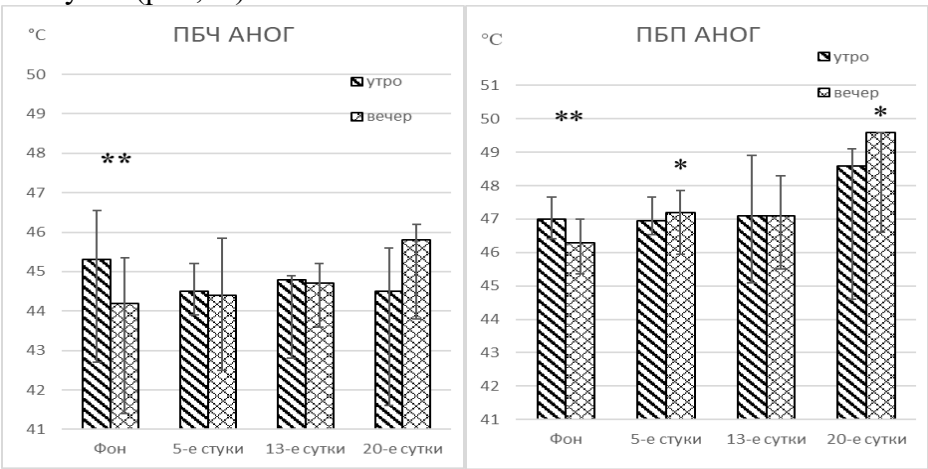


Рисунок 3. Динамика ПБЧ и ПБП в группе АНОГ -6°, * - по сравнению с фоном (p<0,05), ** - по сравнению с утром/вечером (p<0,05).

С 6 суток 6 испытателей 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 4). В группе АНОГ, наоборот, вечерние значения порогов выросли и ПБП достоверно превысил значения в фоне и на 13 сутки.

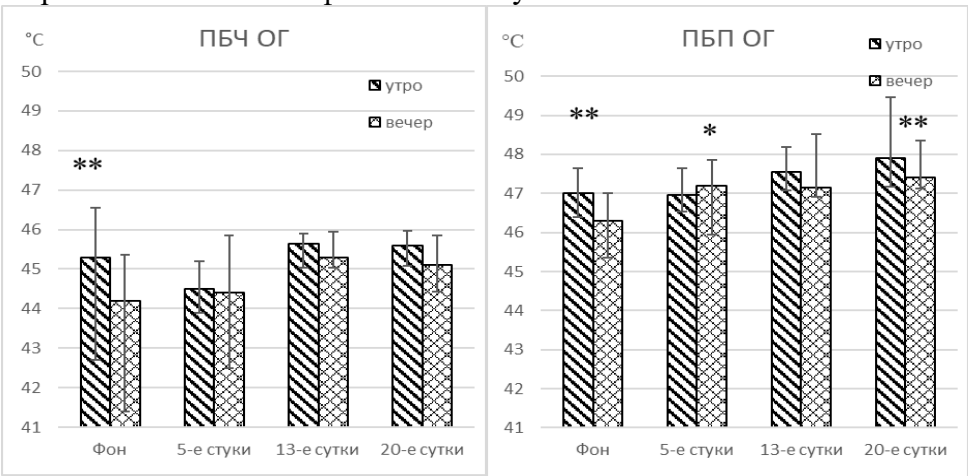


Рисунок 4. Динамика ПБЧ и ПБП в группе ОГ +9,6°, * - по сравнению с фоном (p<0,05), ** - по сравнению с утром/вечером (p<0,05).

Таким образом, если представить на графиках разницу между утренней и вечерней температурой ПБЧ и ПБП, то мы увидим, что после перевода 6 испытателей в ОГ динамика этих показателей сменилась на противоположную (рисунок 5).

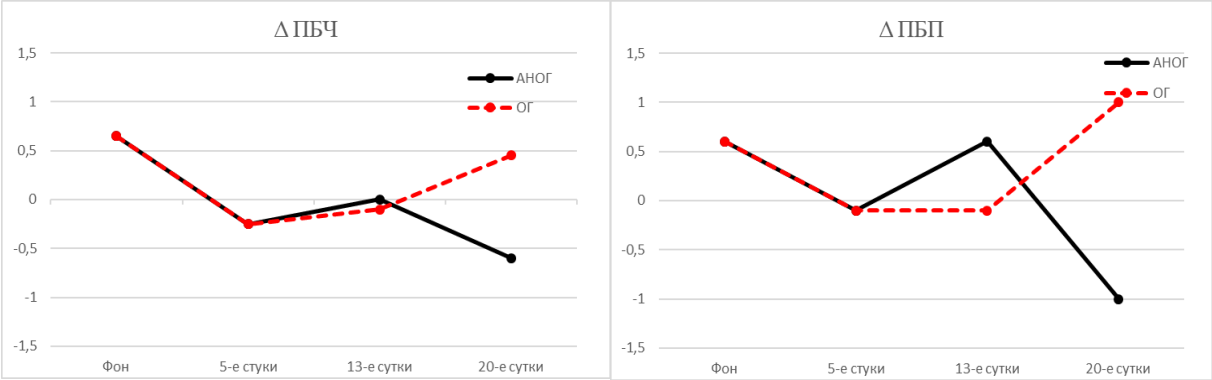


Рисунок 5. Динамика разницы (Δ) ПБЧ и ПБП в ходе эксперимента в группах АНОГ (-6°) и ОГ (+9,6°).

Для оценки влияния кортизола на пороги болевой чувствительности параллельно с тестированием проводили забор венозной крови и определяли уровень кортизола в плазме крови. Динамика концентрации кортизола в обеих группах сходная и выражается в статистически значимом снижении утренней концентрации в ходе гипокинезии (рис. 6).

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.

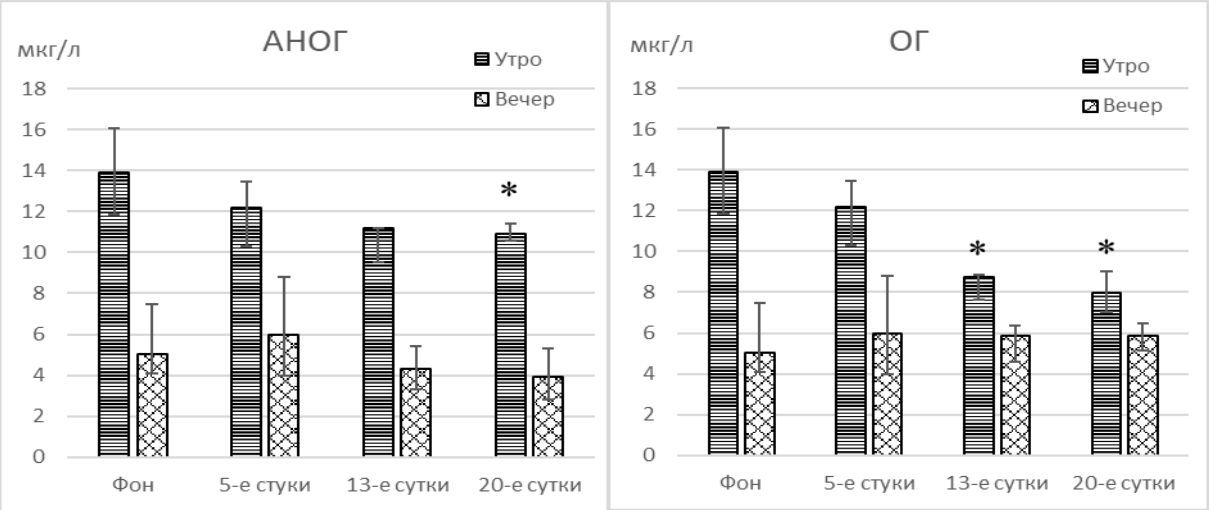


Рисунок 6. Динамика утренней и вечерней концентрации кортизола в ходе эксперимента в группах АНОГ (-6°) и ОГ (9,6°), * - по сравнению с фоном ($p<0,05$).

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 испытателей, 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.

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).

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°С, 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.

Клинические признаки и перитонеальный экссудат.

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.

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. В то же время, в группе №4 при меньшем количестве животных с бактериальным компонентом мы видели микроскопическую картину с очень большим количеством бактерий, разрушенными нейтрофилами при практически полном отсутствии фагоцитоз.

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.

Биохимический анализ крови.

Показатели биохимического анализа крови представлены в таблице 3, в виде медианы, первого и третьего квартиля.

Таблица 3. 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 (Поляков В.В., Смирнов К.В., Бедненко В.С., 1990). Даже не продолжительные полёты, по данным зарубежных исследователей, влияют на скорость синтеза белка (Nicogossian M.C., Sawin C.F., Huntoon C.L., 1994) 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. Так же в моче отмечено увеличение уровня мочевой кислоты. Схожие данные получены в наземных модельных экспериментах (Смирнов К. В., 1991). 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 аспартатаминотрансферазы 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.

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.

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.

Стенка кишки

Ведущим признаком воспалительной реакции является лейкоцитарная инфильтрация. Встречались участки значительной инфильтрации подслизистой и особенно мышечной оболочек лейкоцитами. 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 (рис. 7А). Отек мышечной оболочки был особенно выражен в циркулярном слое (рис.7Б).

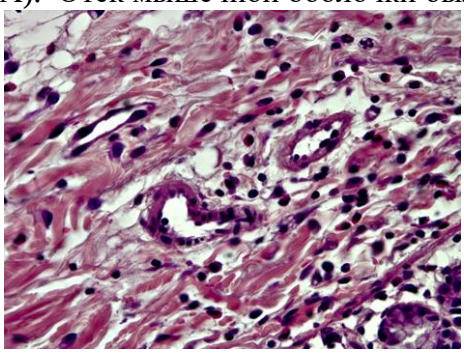
А  Б

Рисунок 7. Перитонит, подслизистая оболочка с большим числом гладкомышечных клеток. Пустые просветы сосудов и отсутствие эритроцитов в пространствах, занятых отечной жидкостью (А) (окраска гематоксилин-эозином увеличение х600). Перитонит, обширные «пустые» (отёчные) пространства в подслизистой оболочке, отек циркулярного слоя мышечной оболочки (Б) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение х100).

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 (рис. 8А).

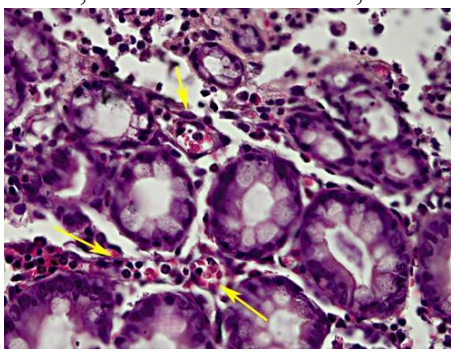
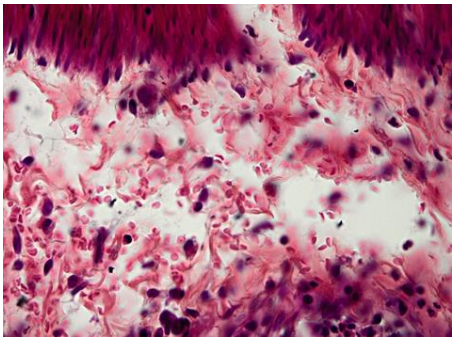
А  Б 

Рисунок 8. 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 (А). Отечная жидкость подслизистой оболочки содержит много излившихся из сосудов эритроцитов (Б) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение х600).

Разрушение стенки сосудов при АОВ проявлялось в большом числе эритроцитов, находящихся в обычной для перитонита отечной жидкости (рис. 8Б). 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.

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 объему дольки, либо диаметр синусоидов увеличивался в центральной части дольки, при приближении к центральной вене, 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.

Развитие перитонита сопровождалось, значительно более выраженным, чем при АОВ, расширением синусоидов, появлением в них и в центральной вене эритроцитов, крупнокапельной вакуольной дистрофии гепатоцитов. Расширение синусоидов было столь резким, что диаметры синусоидов и печеночных балок сравнивались.

При оценке перитонита на фоне АОВ циркуляторные изменения в печени были выражены существенно меньше, чем при перитоните у виварийных животных. Это выражалось в меньшем расширении как синусоидов, так и центральных вен в дольках, хотя и там в синусоидах присутствовали нейтрофилы, как свидетельство воспалительной реакции.

В настоящее время, точный механизм положительного влияния вывешивания на морфологическую картину мы пока назвать не можем. Возможно, это связано с особенностями кровоснабжения печени. В отличии 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.

Поджелудочная железа.

Поджелудочная железа животных контрольной группы представлена на рисунке 9. Структура железы без изменений: видны базальные зона ацинусов и ацинарных клеток, хорошо различаются ядра ацинарных клеток. Междольковые протоки и сосуды, как правило, пустые.

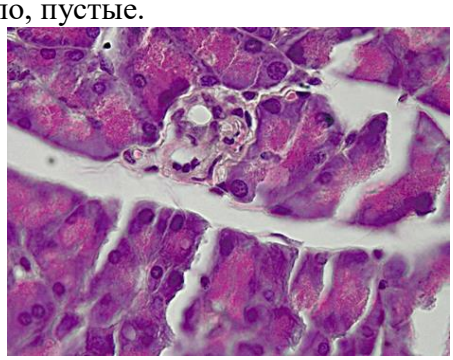
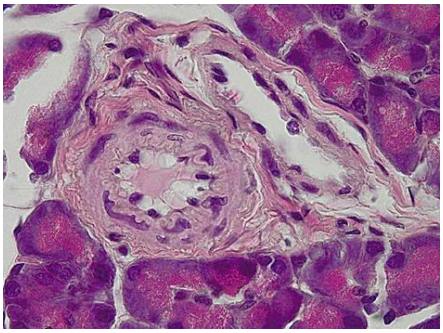
А  Б 

Рисунок 9. Поджелудочная железа контрольной крысы. Пустой междольковый проток (А) и пустые междольковые сосуды (Б) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение х1000).

Любопытную картину можно наблюдать в полутонких срезах (рисунок 10).

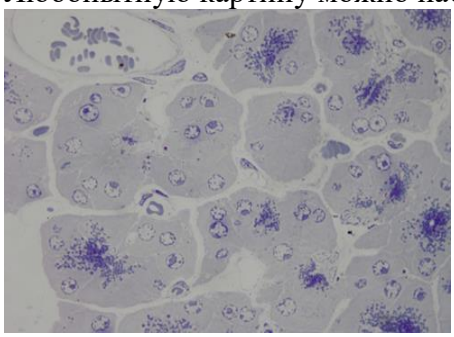
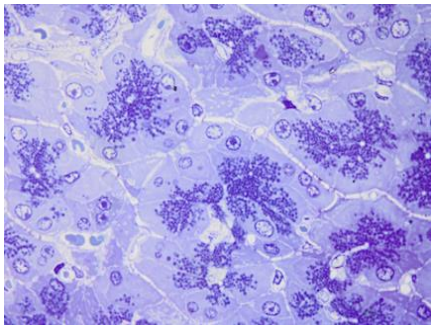
А  Б 

Рисунок 10. Сравнение ткани поджелудочной железы крыс контрольной группы (А) и вывешенных животных (Б). Можно отметить значительно большее скопление гранул профермента зимогена в ацинарных клетках в группе АОВ (группа 2). (Полутонкие срезы Окраска толуидиновым синим, увеличение х1000).

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. 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 биоспутника «Космос-782» (Логинов А.С., Аруин Л.И., Бродский Р.А. и др. 1978). В ходе проведения параллельного исследования выявлена задержка в накоплении секрета поджелудочной железы, в верхушечных отделах ацинарных клеток, выражавшееся в большом количестве гранул зимогена. У животных совершивших полет на биоспутнике 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 траспортировки ферментов поджелудочной железы.

У крыс с перитонитом в условиях вивария выявлены значительные участки, содержащие ацинарные клетки без гранул зимогена (рисунок 11А). 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 очагами панкреонекроза, но они всегда были только очагами, не имели широкого распространения, а в некоторых микропрепаратах патологические проявления ограничивались только межацинарным отеком ткани (рисунок 11Б).

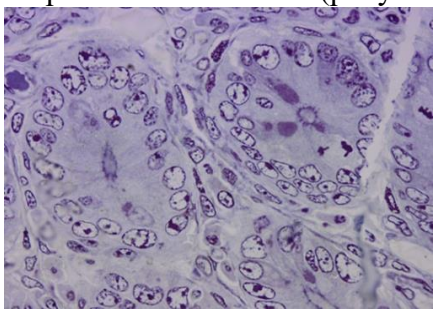
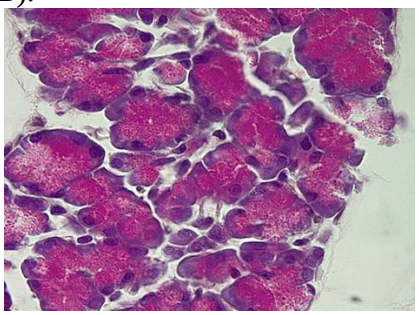
А  Б 

Рисунок 11. Изменения ткани поджелудочной железы при перитоните. Экзокринные клетки без гранул (А). Отдельные гранулы видны в междольковых протоках (Полутонкий

срез, окраска толуидиновым синим, увеличение х1000). Участок поджелудочной железы с сохранённой структурой, можно видеть клеточные ядра и гранулы зимогена. Патологические проявления ограничены явлениями отёка межацинарного пространства (Б) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение х1000).

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 12А), которого не наблюдали при перитоните в группе 3. Обширные зоны панкреонекроза многократно находили в непосредственном соседстве с сохранившимися островками Лангерганса (рисунок 12Б). Вовлечения в некротическую зону островков не наблюдали.

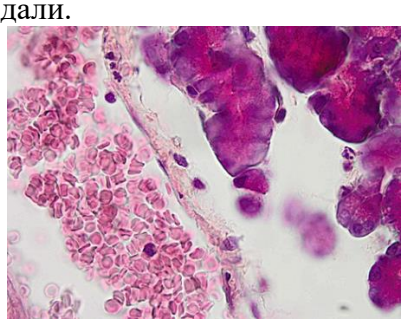
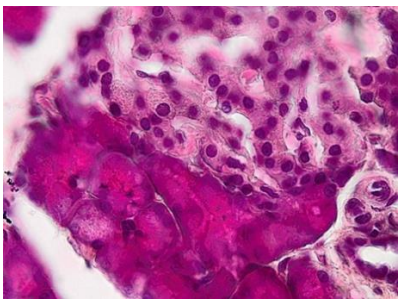
А  Б 

Рисунок 12. 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 (А) Сочетание картины панкреонекроза в нижней части снимка и сохранной ткани островка Лангерганса в верхней части (Б) (Окраска гематоксилин-эозином, увеличение х1000).

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.

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

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

Одним из важнейших патоморфологических состояний является некроз – омертвение 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 - омертвение участка ткани.

Учитывая клиническое значение нарушений в ЦНС, для рассмотрения процесса некроза в невесомости, мы выбрали модели повреждения головного мозга. 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 и одним из наиболее важных объектов экспериментальных работ в моделях невесомости.

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

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. 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.

В первом эксперименте использовали нелинейных крыс-самцов массой 210-220 г. у которых вырабатывали условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ). 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» вывешивали вниз головой под углом -30° (АОВ – 30°). После 14-суточного пребывания в АОВ и ещё 2-х суток в обычных виварийных условиях проверяли ранее выработанный УРПИ и оценивали двигательную активность. После этого, под наркозом животное декапитировали и выделяли префронтальную зону коры из которой готовили препараты для микроскопии.

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 4 и 5. Значения ЛП указанные в таблице 4 были измерены до выработки УРПИ. Перед вывешиванием у всех животных обеих групп ЛП составлял не менее 300 сек.

Анализ данных, представленных в таблице 4 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 УРПИ 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, избегают его повторения. Результаты обследования животных ЭГ, напротив, можно рассматривать как неблагоприятное влияние условий АОВ на когнитивные функции. Неблагоприятный эффект АОВ ожидаемо проявился и в общем состоянии животных. Если вес крыс КГ увеличился, то подопытные животные потеряли в весе более 20%.

Таблица 4. 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 5. 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 4.
Примечание: * - достоверное отличие от фоновых значений ($p<0,05$);
** - достоверное отличие от экспериментальной группы ($p<0,05$).

Таким образом, 14-суточное АОВ явилось сильным фактором для крыс, способным вызвать, по крайней мере, у некоторых из них, снижение когнитивных функций.

Второй эксперимент был выполнен на нелинейных крысах-самцах массой 220-230 грамм. У крыс также вырабатывали УРПИ 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 под наркозом 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 АОВ, а контрольной группы – в виварии. После этого у всех животных проверяли сохранность УРПИ, под наркозом выводили из эксперимента и готовили микропрепараты 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 6.

Таблица 6. 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.

Морфологическая картина, как в экспериментальной, так и в контрольной группе была неоднородна и достоверно судить об особенностях именно в очаге некроза не представлялось возможным. В то же время, повреждение и восстановление неразрывно связаны, и изолированно их невозможно ни изучать, ни описывать. Если характер повреждений в зоне некроза в обеих экспериментальных группах не имел существенного отличия, то процесс восстановления имел 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 13А). Сосуды с макрофагальной стенкой иногда достигают крупного калибра. У животных из ЭГ преобладали сосуды обычного эндотелиального типа (рисунок 13Б).

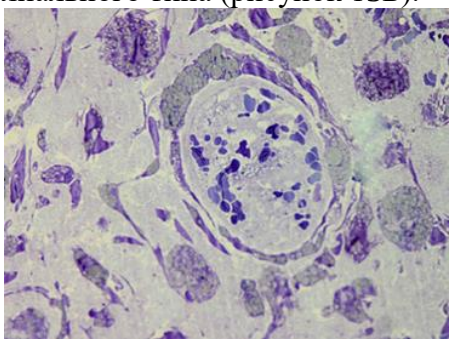
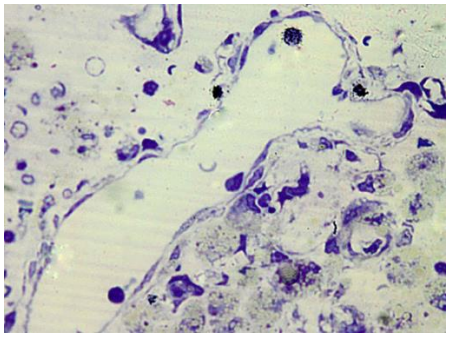
А  Б 

Рисунок 13 (А). Заживление зоны некроза в контроле. Крупный сосуд с необычной «макрофагальной» стенкой, которая состоит только из гипертрофированных макрофагов. В стенке сосуда других клеток нет. (Б) Крупный быстро растущий сосуд (группа АОВ).

Хотя питаемая им область (особенно снизу) состоит в основном из макрофагов, стенка самого сосуда привычного сосудистого строения (Увеличение х1000).

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.

Геморрагический некроз.

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 7. 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; 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.

Таблица 7. 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 + PRP	виварий
3	24/6	75%	Коллагеновая губка + PRP	7 суток АОВ после операции
4	12/7	42%	Коллагеновая губка + PRP	7 суток АОВ перед операцией
5	8/7	12,5%	Коллагеновая губка + PRP	2 суток АОВ перед операцией
6 (контроль)	10/10 Операции не было	0%	-	виварий

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. Подготовку и проводку морфологических

препаратов проводили по методике описанной выше. Окраску препаратов проводили по специальной методике, разработанной в лаборатории проф. Пальцына А.А. (ФГБУН НИИ ОПП РАН).

Оценка двигательной функции у крыс различных групп представлена на рисунке 14.

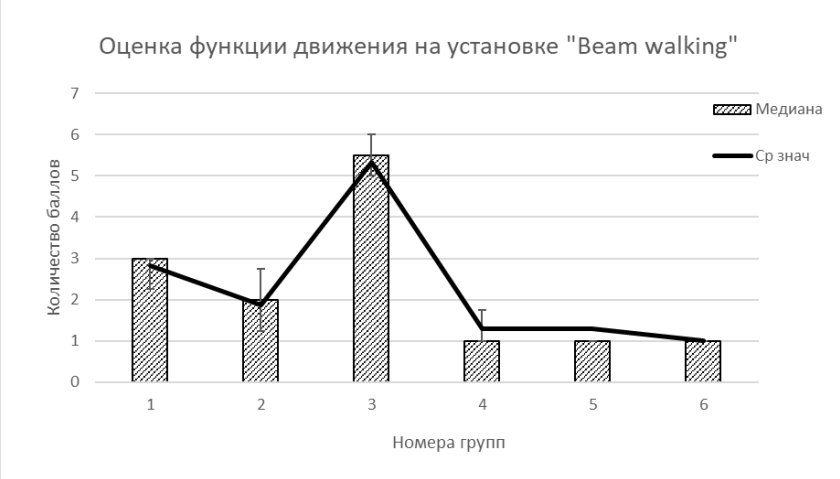


Рисунок 14. Оценка функции движения через неделю после индукции инсульта у крыс различных групп и в контроле (6 группа) оценка – 1 балл).

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 послеоперационнаяя 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 15 (a,b) 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.

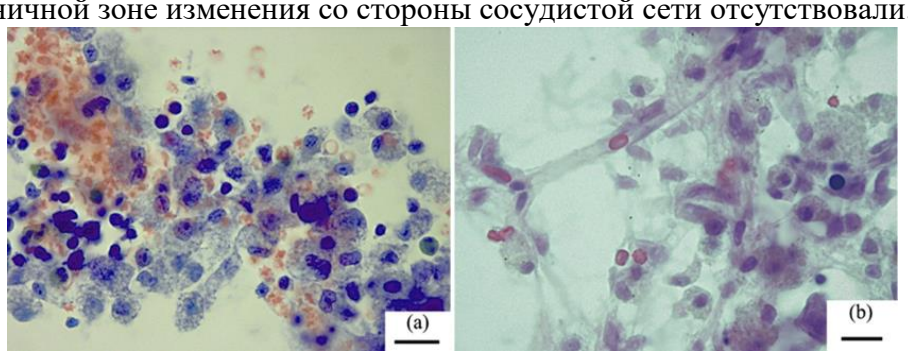


Рисунок 15. (a) Первая группа. Экстравазат, состоящий из эритроцитов и макрофагов с цитоплазмой, заполненной гранулами. (b) Первая группа. Новообразованный сосуд (капилляр) и макрофаги в зоне инфильтрата.

Во второй группе количество вновь образованных сосудов в зоне пенумбры было существенно больше, чем в первой группе (рисунок 16e). Сосуды были более зрелыми, обладали большим диаметром и, наряду с капиллярами, были представлены артериолами и венулами (рисунок 16f).

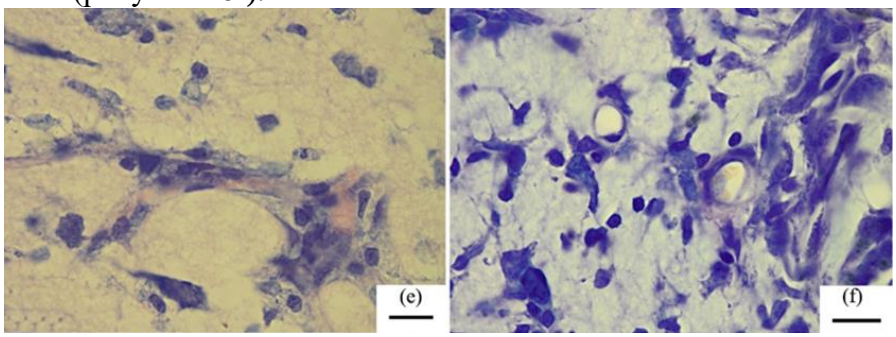


Рисунок 16. (e) Вторая группа. Зона инфильтрата. Полнокровные кровеносные сосуды.
(f) Вторая группа. Зона пенумбры. Среди клеток инфильтрата определяются 2 венулы небольшого диаметра, стенки одной из них утолщены.

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 17 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 17 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) такие макрофаги выявлялись постоянно.

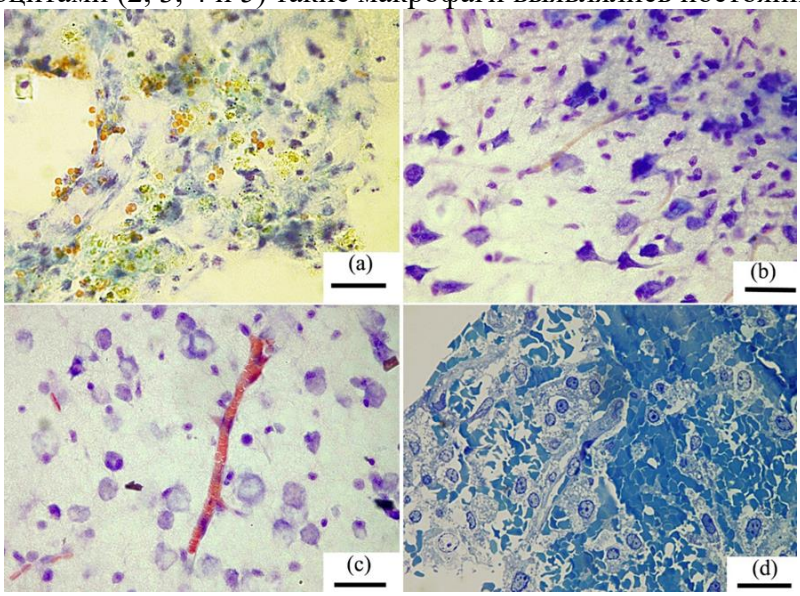


Рисунок 17. (a) Третья группа. Зона инфильтрата. Экстравазаты из эритроцитов. Макрофаги с зелёными гранулами x600. (b) Третья группа. Пограничная зона. Расширенные полнокровные капилляры x600. (c) Третья группа. Зона нормальной коры, прилегающая к очагу повреждения. В центре кадра виден капилляр с эритроцитарным сладжем x600. (d) Третья группа. Полутонкий срез. В экстравазате видны макрофаги, содержащие в цитоплазме светлые гранулы x1000.

Процесс образования сосудов в четвёртой группе, в отличии от групп 1 и 3, шёл более активно. Новообразованных сосудов было большее количество и представлены они были не только капиллярами, но и артериолами и венулами (рисунок 18a). 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 18b). Большая часть свободно лежащих эритроцитов находилась в зоне пенумбры, в пограничной зоне коры и в зоне инфильтрата они выявлялись в крайне редко (рисунок 18a).

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

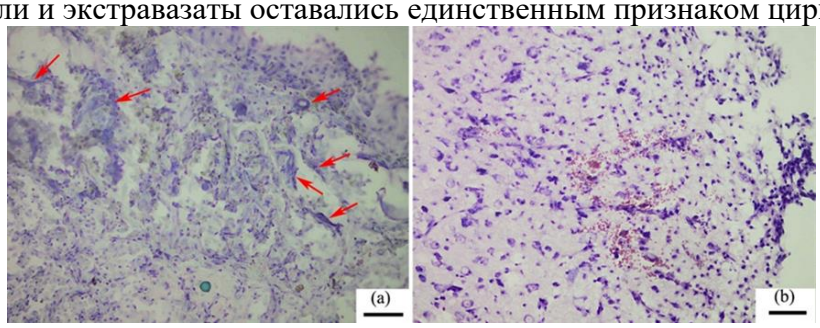


Рисунок 18. (a) Четвёртая группа. Зона инфильтрата. Вновь образованные артериолы отмечены стрелками, x200. (b) Четвёртая группа. Зона пенумбры. Экстравазат состоящий из рыхло лежащих, свободных эритроцитов, x200.

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 19 a,b,c).

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

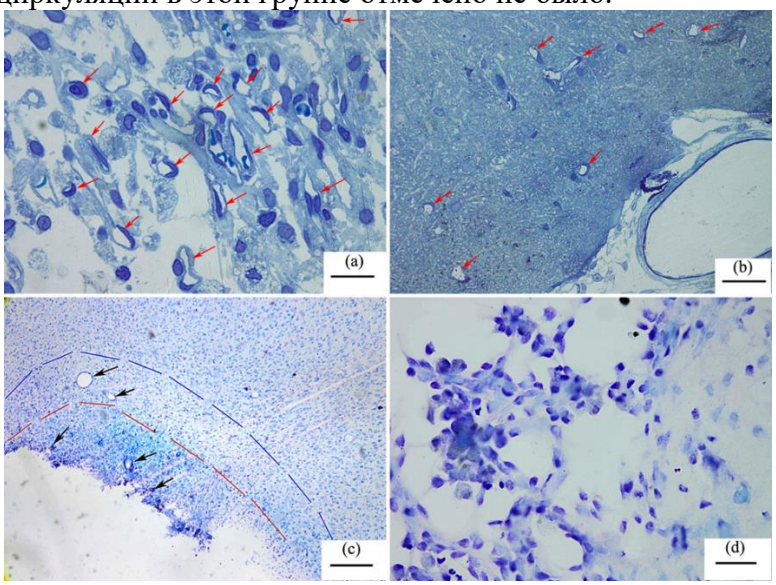


Рисунок 19. (a) Пятая группа. Полутонкий срез. Зона инфильтрата. Красными стрелками обозначены вновь образованные капилляры и венул, x1000.(b) Пятая группа. Полутонкий срез. Зона пенумбры. Стрелками обозначены вновь образованные сосуды, x600. (c) Пятая

группа. Общий вид зоны повреждения. Чёрными стрелками обозначены вновь образованные сосуды в инфильтрате и зоне пенумбры. Зона инфильтрата отмечена красным пунктиром, зона пенумбры – синим, x40. (d) Пятая группа. Инфильтрат. Можно видеть макрофаги преимущественно со светлыми гранулами, единичные клетки с зелёными гранулами, x600.

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. По своему происхождению это были ядра нейрона и олигодендроцита. Ядра олигодендроцитов в нейронах имели разный вид с постепенным увеличение сходства с ядрами нейронов, на основании которого, можно сделать вывод о поэтапном пронейрональном перепрограммировании (Пальцын А.А. с соавт. 2008,2009). Исходя из этого, активность восстановительных процессов можно оценить по количеству слияний в тканях, примыкающих к очагу некроза. 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 двухядерная клетка. Результаты сравнивали по критерию Вилкоксона. Полученные результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8. Площадь, занимаемая одной двухъядерной клеткой.

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

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 значительнее 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 значительнее сказываться неблагоприятные последствия увеличенного венозного давления: снижение эластичности сосудистой стенки, отек.

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). В то же время, многие патологические процессы сопровождаются гипогидратацией и снижением ОЦК. Поскольку изучение особенностей развитие 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.

Дополнительные потери жидкости, в нашем исследовании, 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.

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±141,9 мл, выделено – 667,7±427,9 мл.

Второй отрезок, после введения диуретика, характеризовался отчетливым отрицательным водным балансом. В среднем было выпито 1100,7±183,1 мл, а выделено – 1624,3±297,8 мл жидкости. Таким образом, можно утверждать, что у всех испытателей был создан дефицит жидкости в организме на фоне воздействия АНОГ.

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). Статистический анализ проводили с использованием критерия Вилкоксона.

Изменения объемов жидкости в области нижних конечностей.

В течение первых 12 часов АНОГ 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 20).

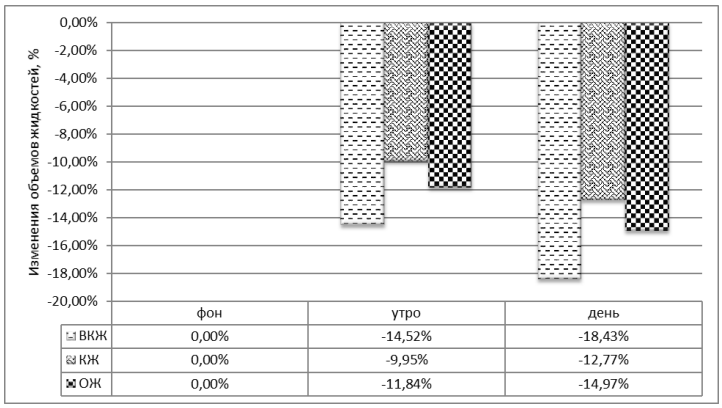


Рисунок 20. Изменения средних значений объемов жидкостей в области нижних конечностей.

Изменения между точками «фон» - «утро» и точками «утро» - «день» в каждом из изучаемых жидкостных компартментов статистически значимы $p<0,05$

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 21). Изменения между точками «фон» - «утро» и точками «утро» - «день» в каждом из изучаемых жидкостных компартментов статистически значимы ($p<0,05$).

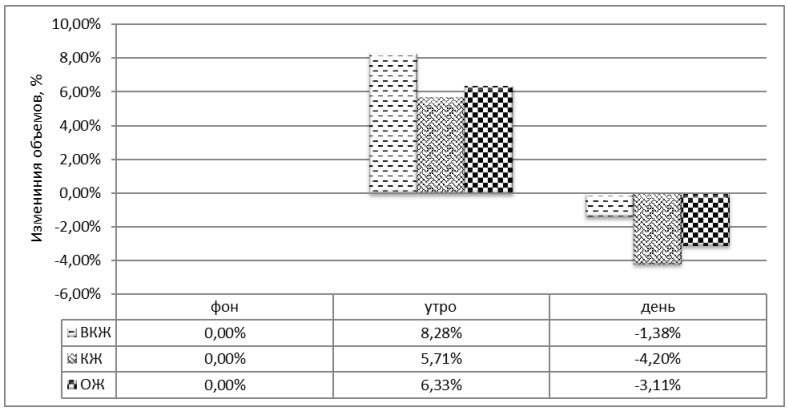


Рисунок 21. Изменения средних значений объемов жидкостей в области головы.

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 ($p<0,05$) 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 22).

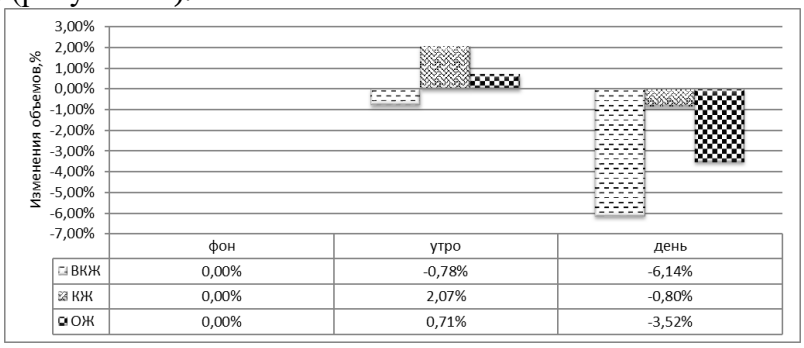


Рисунок 22. Изменения средних значений объемов жидкостей в области верхних конечностей.

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% ($p<0,05$). После введения диуретика объем ВКЖ продолжил значимо снижаться и упал еще на 5,87% ($p<0,05$), в то время как в других компартментах значимых изменений не отмечено (рисунок 23).

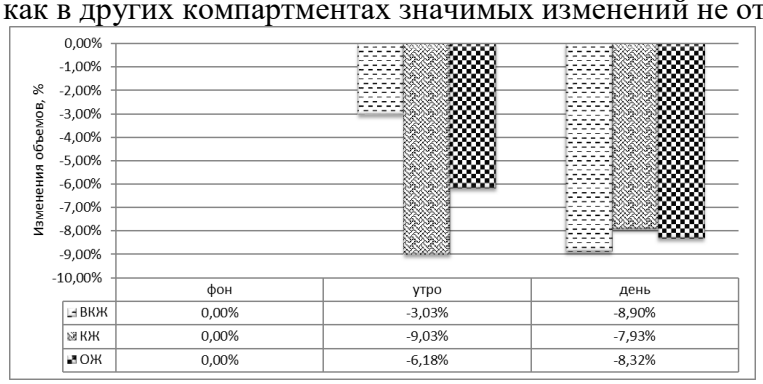


Рисунок 23. Изменения средних значений объемов жидкостей в абдоминальной области.

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%) ($p<0,05$) за счет сектора КЖ (в среднем на 6,35%) ($p<0,05$), изменение объема ВКЖ было незначительным; после введения диуретика, наоборот значимо уменьшился объем ВКЖ на 6,79% ($p<0,05$), в то время как в секторе КЖ произошел минимальный прирост объема в среднем на 1,76% (рисунок 24).

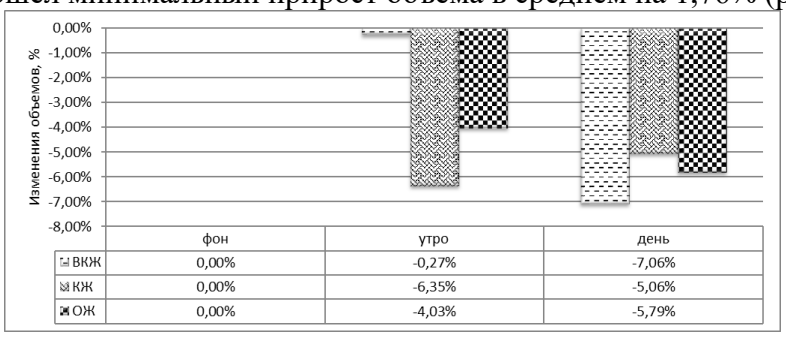


Рисунок 24. Изменения средних значений объемов жидкостей в области грудной клетки.

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 ($p<0,05$) (рисунок 25). Однако, наибольший вклад в гравитационное снижение вносит КЖ. В то же время, после введения диуретика, основную роль в снижении объема ОЖ ($p<0,05$) берет на себя ВКЖ ($p<0,05$). Изменения КЖ не достигают уровня статистической значимости.

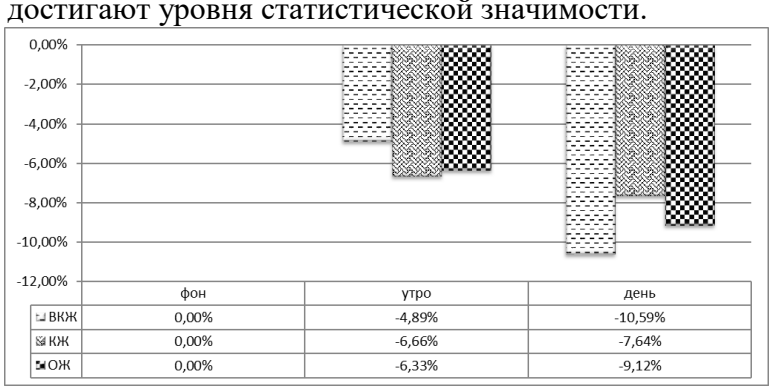


Рисунок 25. Изменения средних значений объемов жидкостей в сумме по регионам тела.

Таким образом, обобщая экспериментальные данные по диурезу и анализу водных секторов, можно отметить ожидаемое достоверное снижение общей жидкости в организме испытателей 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 едина, 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.

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 точках: «Фон», «Утро», «День», «Вечер».

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 26).

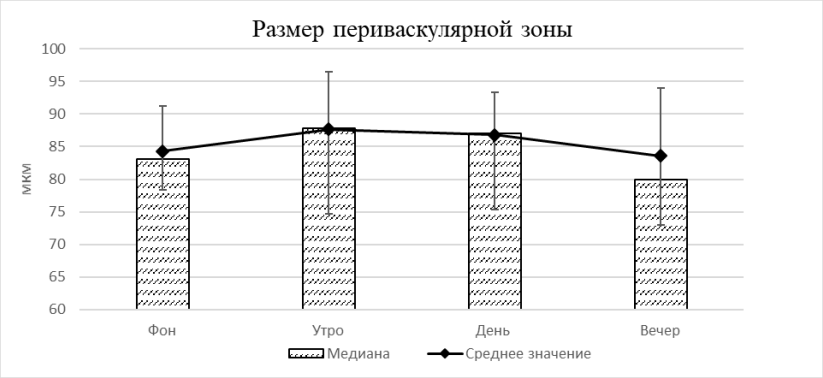


Рисунок 26. Динамика размера периваскулярной зоны (медиана, квартили 25 и 75%, среднее значение).

Диаметр артериального отдела (АО).

Артериальный отдел капилляра 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. За 21 час диаметр АО уменьшается с 6,55 до 6,37 мкм при уровне значимости p=0,05 по критерию Вилкоксона (рисунок 27).

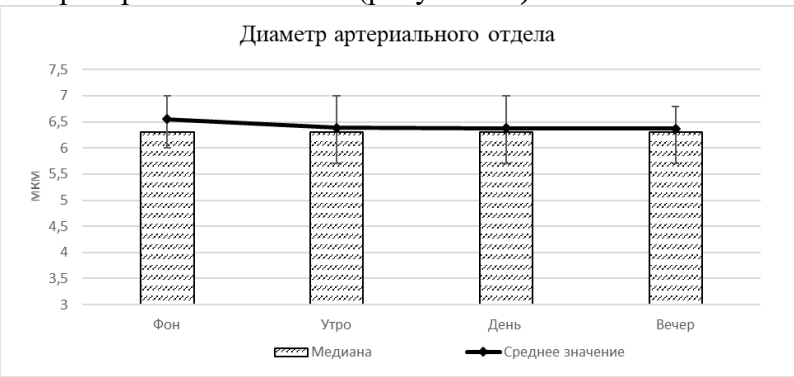


Рисунок 27. Динамика диаметра артериального отдела (медиана, квартили 25 и 75%, среднее значение).

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 28).

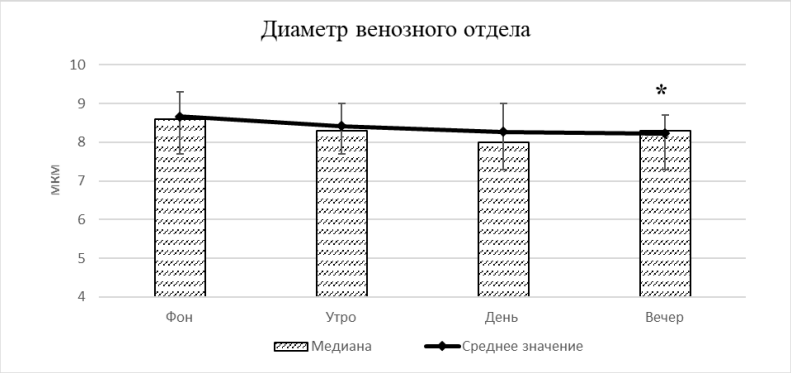


Рисунок 28. Динамика диаметра венозного отдела (медиана, квартили 25 и 75%, среднее значение). * - показатель статистически значимо отличается от фона (p<0,05).

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 однонаправленость 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.

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.

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 были выражены

меньше, чем в нижних конечностях, а изменения парциального давления углекислого газа носили более выраженный характер, чем напряжение кислорода. При анализе мы оценивали отдельно влияние АНОГ и влияние дополнительной потери жидкости, моделируемой введением диуретика на фоне АНОГ.

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

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

В отличие от кислорода напряжение CO_2 в периферических сосудах значимо меняется под действием антиортостатического положения (рисунок 29).

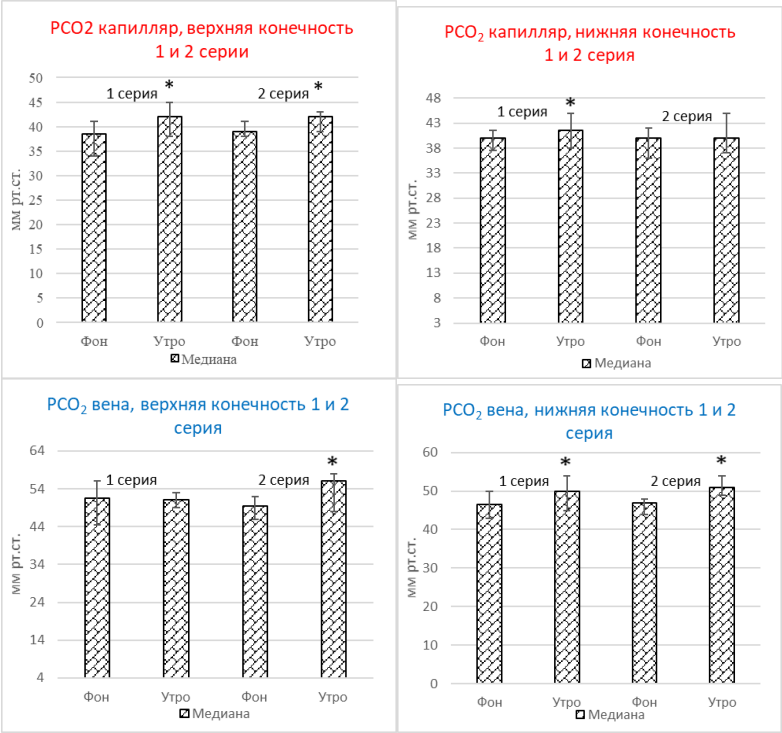


Рисунок 29. Парциальное напряжение углекислого газа в капиллярной и венозной крови верхней и нижней конечности после 12-ти часового антиортостатического воздействия. * - показатель статистически значимо отличается от фона ($p<0,05$).

Уже через 12 часов АНОГ напряжение углекислого газа статистически значимо нарастает в капиллярах и венах верхних и нижних конечностей. Причиной роста парциального напряжения CO2 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» (Баранов В.М., Катунцев В.П., 2022). Фоновые данные регистрировали вечером, а утренние показатели регистрировали в 8.00, после ночного сна. Изменения патернов дыхания в ночное время со снижением частоты дыхания, на фоне снижения

чувствительности дыхательного центра, приводят к снижению выведения CO2 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:

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 30).

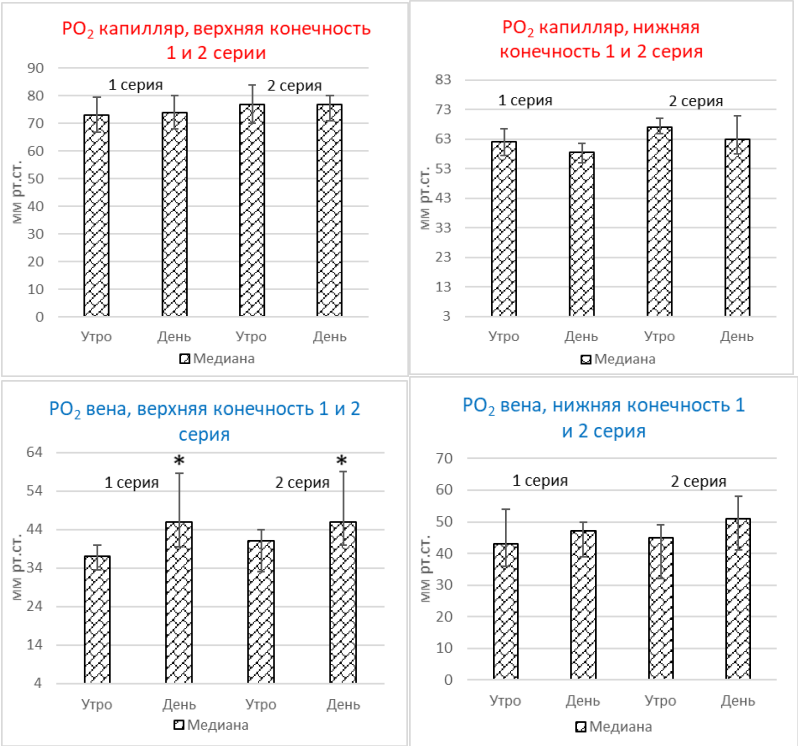


Рисунок 30. Парциальное напряжение кислорода в капиллярной и венозной крови верхней и нижней конечности после введения диуретика на фоне антиортостатического воздействия. * - показатель статистически значимо отличается от точки «утро» ($p<0,05$).

Напряжение кислорода повышается, что обусловлено артерио-венозным шунтированием крови со снижением газообмена в периферических тканях на фоне уменьшения ОЦК и снижения объёма 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.

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

Парциальное напряжение углекислого газа, как и в ситуации с АНОГ демонстрирует более выраженнные изменения, как в верхних, так и в нижних конечностях по сравнению с кислородом (рисунок 31).

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.

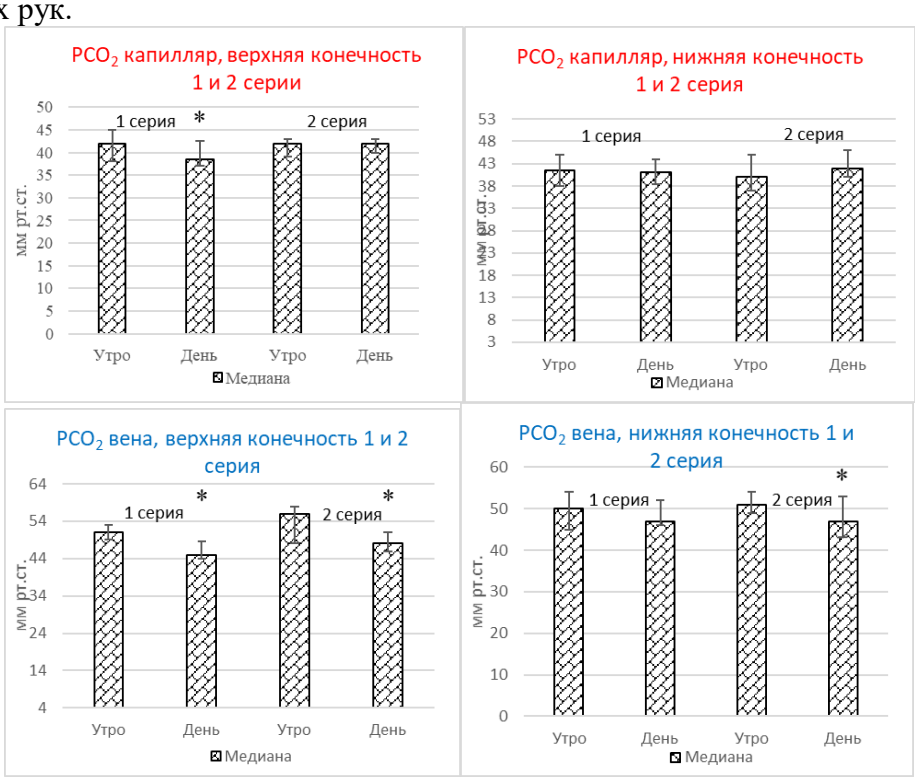


Рисунок 31. Парциальное напряжение углекислого газа в капиллярной и венозной крови верхней и нижней конечности после введения диуретика на фоне антиортостатического воздействия. * - показатель статистически значимо отличается от точки «утро» ($p<0,05$).

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.

Изменений в системе микроциркуляции в нашем исследовании выявить не удалось. За исключением некоторого статистически значимого снижения диаметра венозного отдела капиллярного русла. Тем не менее, к отсутствию изменений в микрогемодинамике надо подходить осторожно. Вероятно, это связано с тем, что 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. 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 увеличение доли артерио-венозного шунтирования кровотока. Увеличение шунтирующего кровотока, связано со снижением ОЦК и выключением части капилляров из активного газообмена.

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. Вероятность этого

события в условиях полета не высока, но риск для жизни 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.

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 вывешивания (АОВ). Для выявления изменений электрической и функциональной активности сердца использовали методы ЭКГ и Эхо-КГ. 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 спектрометрии (ЛКС). Забор крови происходил из боковой хвостовой вены и при декапитации.

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

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

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. Уменьшение продолжительности интервала PR(PQ) свидетельствует об ускорении антриовентрикулярной проводимости и может быть предшественником наджелудочковых пароксизмальных аритмий. Увеличение интервала QT в опытных группах свидетельствует о замедленной реполяризации желудочков, возможно, о наличии ишемии.

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 значимо отличалось от контроля, что требует упоминания, как о возможном проявлении АОВ.

В группе АОВ через 2 недели реадаптации достоверных отличий по показателям ЭКГ, в сравнении с группой Контроль и животными, выведенными из эксперимента непосредственно после АОВ, обнаружено не было. Таким образом, выявленные нарушения проводимости миокарда, возникающие в течение 2 недель при моделировании микрогравитации, имеют обратимый характер.

Анализ эхокардиографических данных.

Для того чтобы проанализировать изменения функции сердца после действия микрогравитации в качестве контрольных значений взяты величины из статьи Крыжановского С.А. с соавторами (2014). Эхокардиографическое исследование левого желудочка (ЛЖ) было проведено 12 крысам сразу после окончания АОВ. В 8 случаях наблюдали снижение фракции выброса (ФВ) и увеличение конечного систолического размера (КСР), свидетельствующие о снижении насосной функции сердца (НФ). В

остальных 4 случаях измеряемые показатели не отличались от нормальных значений. Увеличение КСР ЛЖ нивелируется через 2 недели реадаптации, сниженные фракции выброса и укорочения после АОВ восстанавливаются уже через 1 неделю реадаптиции. 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 (отношение массы сердца к массе тела). Было обнаружено значимое увеличение отношения данного коэффициента, что вместе с изменениями, выявленными при регистрации ЭхоКГ, может свидетельствовать о гипертрофических изменениях миокарда, которые нормализуются через 2 недели после реадаптации.

Изменения в лейкоцитарной формуле.

После АОВ выявлены лейкопения и лимфопения, вероятно связанные со снижением иммунологической реактивности. Полученные результаты согласуются с данными космических экспериментов, проведенных на мелких грызунах на биоспутниках серий «Космос» (Константинова И.В., 1997), и наземных экспериментов, в ходе которых моделировали эффекты микрогравитации (Пономарев С.А. 2011), где было показано снижение клеточного и гуморального звеньев иммунологической реактивности организмов. Зафиксированные сдвиги клеточного состава периферической крови крыс имели обратимый характер и восстанавливались через 2 недели реадаптации до исходного уровня.

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 изопротеринола.

После серии экспериментальных работ мы пришли к выводу, что изопротереноловая модель инфаркта миокарда предпочтительнее, в первую очередь из-за существенно меньшей летальности. К недостаткам, по сравнению с окклюзионной моделью, можно отнести отсутствие чётко видимой зоны некроза, менее выраженные морфологические и биохимические признаки. Тем не менее, учитывая, что изопротереноловый метод является широко используемым и хорошо отработанным, в дальнейших исследованиях в качестве модели инфаркта миокарда был использован именно он.

Исследование влияния эффектов моделированной микрогравитации на развитие инфаркта/ишемического повреждения миокарда непосредственно после вывешивания.

Эксперименты проведены на 161 особи белых беспородных крыс – самцов весом 220 – 290 г. 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 32А) и стойкое снижение ее прироста (рисунок 32Б). В течение двух недель реадаптации происходила нормализация данных показателей. При последовательном воздействии вывешивания и изопротеренола (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.

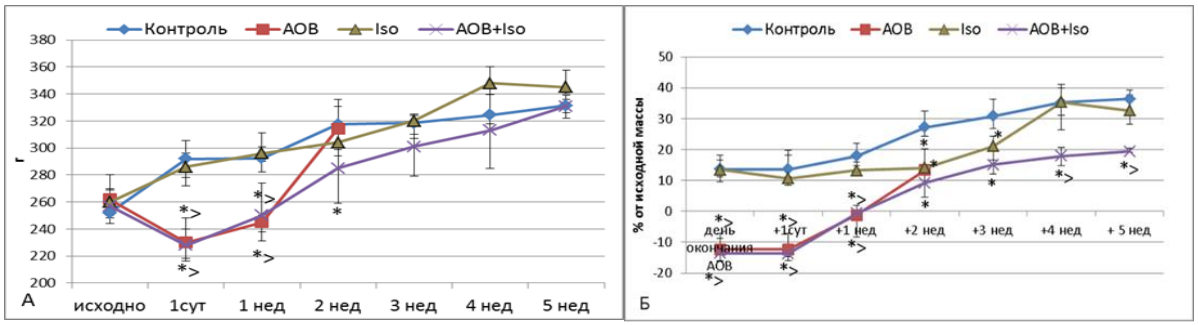


Рисунок 32. Изменение массы тела крыс. А – абсолютная масса тела, Б – прирост массы тела, %. Где * – сравнение с группой контроль, > – сравнение с группой Iso, p<0,05, критерий множественных сравнений Z.

ЭКГ

Были проанализированы изменения электрической проводимости сердца и ритмограммы под действием АОВ и изопротеренол-индуцированного экспериментального ИМ по отдельности и совместно. Контурный анализ ЭКГ крыс опытных групп выявил снижение амплитуды P (рисунок 33А) и R (рисунок 33Б) зубцов по сравнению с контролем в разные сроки после последнего оказанного воздействия.

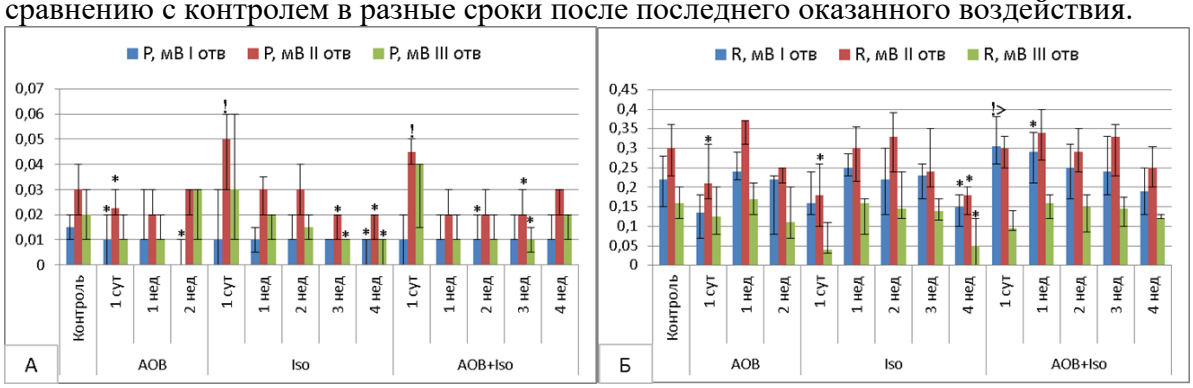


Рисунок 33. Изменение амплитуды зубцов. А – амплитуда P зубца. Б – амплитуда R зубца. Где * – сравнение с контролем, ! – сравнение с группой АОВ, > – сравнение с группой Iso, p<0,05, критерий множественных сравнений Z.

Характерной особенностью для группы АОВ+Iso было наиболее выраженное и продолжительное увеличение длительности комплекса QRS и интервала QTc (рисунок 34).

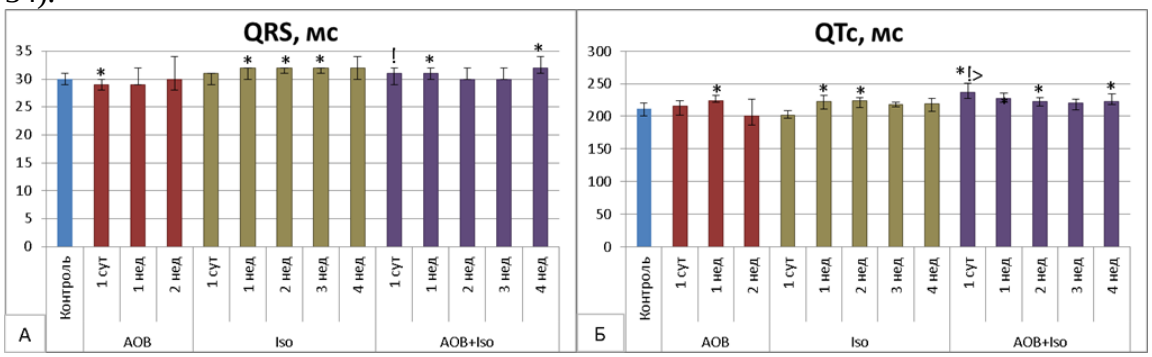


Рисунок 34. Длительность комплекса QRS и интервала QTc. * – сравнение с контролем, ! – сравнение с группой АОВ, > – сравнение с группой Iso, p<0,05, критерий множественных сравнений Z.

Зарегистрированные изменения в ЭКГ крыс после вывешивания (R, мВ и QT, мс) имеют обратимый характер и нивелируются через 2 недели реадаптации 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) 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 АОВ и Iso.

Клинический анализ крови.

При подсчете абсолютного количества лейкоцитов было установлено, что антиортостатическое вывешивание вызвало их снижение. Уменьшение количества лейкоцитов произошло за счет снижения числа лимфоцитов (рисунок 39А) и моноцитов в крови. Введение изопротеренола вызывало небольшое увеличение абсолютного и относительного числа нейтрофилов и снижение числа лимфоцитов (рисунок 39Б), а воздействие двух факторов в группе АОВ+Iso –достоверное изменение содержания нейтрофилов и лимфоцитов (рисунок 35).

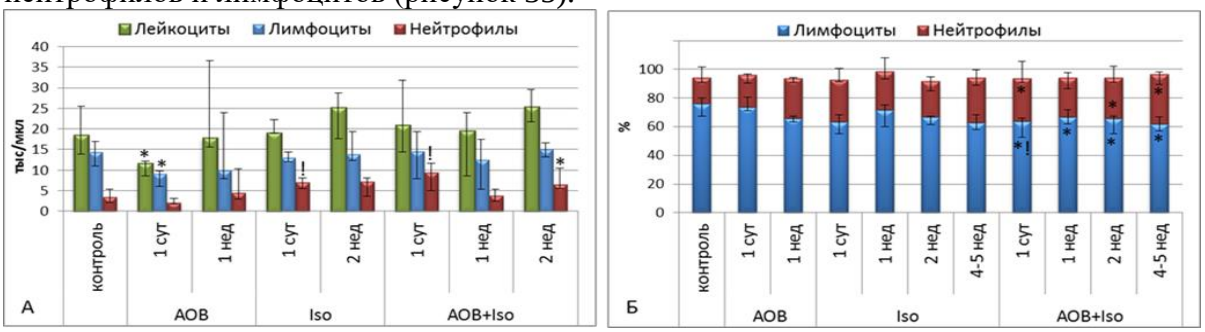


Рисунок 35. Количество лейкоцитов, лимфоцитов и нейтрофилов в крови крыс. А – абсолютное количество клеток в 1 мкл крови. Б – процентное содержание клеток. Где * – сравнение с контролем, ! – сравнение с группой АОВ, > – сравнение с группой Iso, $p<0,05$, критерий множественных сравнений Z.

Изменения 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 36А). При этом, в лейкограмме крови крыс наблюдали увеличение относительного содержания как сегментоядерных, так и палочкоядерных нейтрофилов (рисунок 36Б).

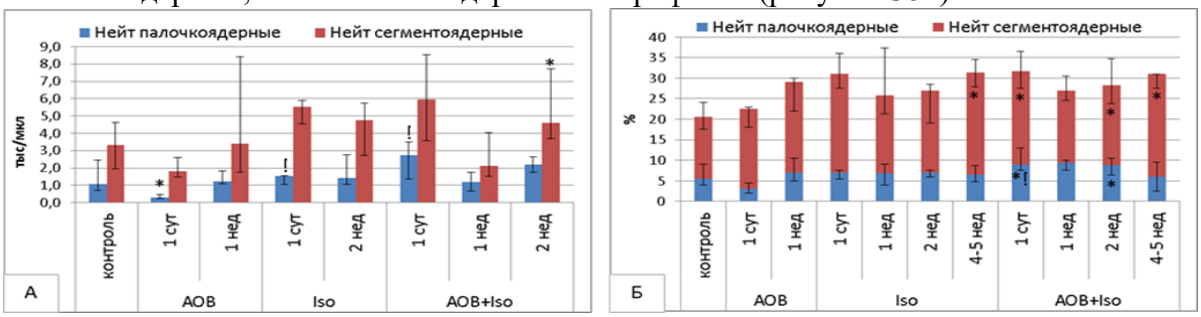


Рисунок 36. Количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов. А – абсолютное количество клеток в 1 мкл крови. Б – процентное содержание клеток. Где * – сравнение с контролем, ! – сравнение с группой АОВ, $p<0,05$, критерий множественных сравнений Z.

Полученные изменения клеточного состава 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. 41. 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 (8-11нм) 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 37А).

Через 1 неделю в группе АОВ сдвиг субфракционного состава крови в сторону нарастания процента крупных частиц (122-300 нм) увеличивался; в группе Iso – зафиксировали увеличение частиц еще большего гидродинамического радиуса (300-545 нм); для группы АОВ+Iso характерно увеличение процентного содержания частиц среднего и крупного размера в районе 67-165 нм по сравнению с другими группами (рисунок 37Б).

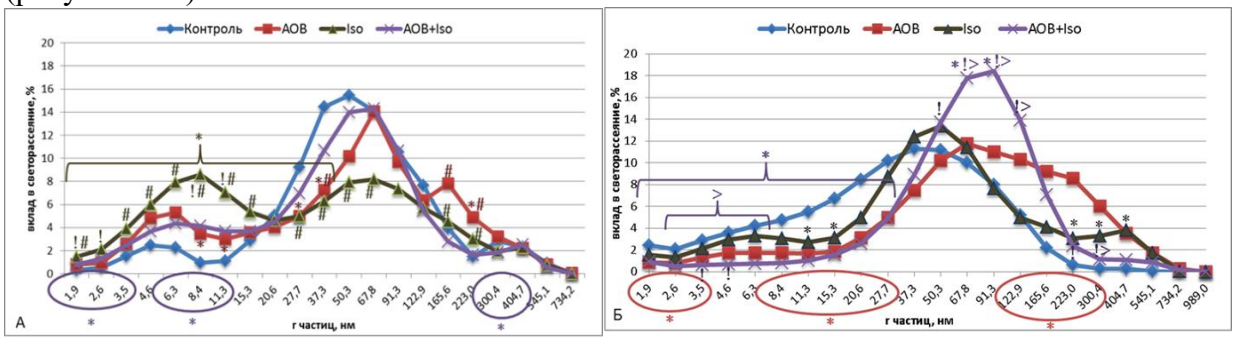


Рисунок 37. Распределение частиц сыворотки крови крыс после окончания воздействий. А – в течение суток после воздействия. Б – через 1 неделю. Где * – сравнение с группой контроль, ! – сравнение с АОВ, > – сравнение с группой Iso, # – сравнение с группой АОВ+Iso, p<0,05, критерий множественных сравнений Z.

Индекс массы сердца.

В группе после АОВ 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 38). В дальнейшем, в течение эксперимента, индекс массы сердца не имел достоверных отличий между группами.

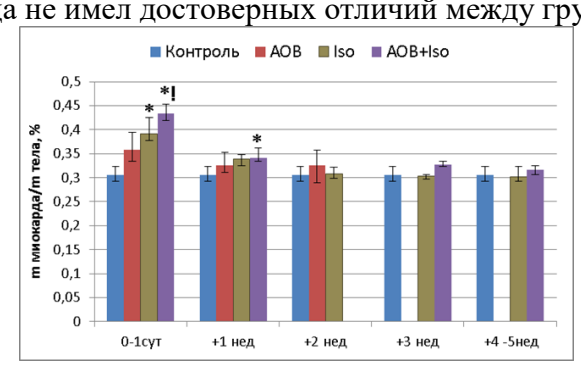


Рисунок 38. Изменение массы миокарда по отношению к массе тела, %. Где * – сравнение с группой контроль, ! – сравнение с группой АОВ, p<0,05, критерий множественный сравнений Z.

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, изменения свойственные как животным после АОВ, так и животным с изопротеренол-индуцированным ИМ без вывешивания. На ЭКГ выявлены статистически значимые изменения амплитуды зубцов P и R, продолжительности интервалов PQ и QTc, а также величины 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.

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±SD), возраст 3-4 месяца. Животные были разделены на 6 групп: группа Контроль (n=33) – интактные крысы; группа АОВ (n=21) – крысы, подвергшиеся двухнедельному АОВ; группа Изо-20 (n=10) – группа с изопротеренол-индуцированным инфарктом миокарда (ИМ); группа Изо - 80 (n=7) – моделирование ИМ; группа АОВ+Изо-20 (n=9) – моделирование отсроченного ИМ через 4 месяца после двухнедельного антиортостатического вывешивания; дополнительная группа АОВ+Изо-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 ИМ, отслеживали особенности его развития, течения и отсроченных последствий в течение 4-х месяцев.

Исходно планировали введение стандартной дозы 80 мг/кг изопротеренола через 6 месяцев после АОВ, однако, все животные группы АОВ+Изо-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 39), причем процент смертности не отличался от группы Изопротеренол в соответствующей дозе (группа Изо_20).

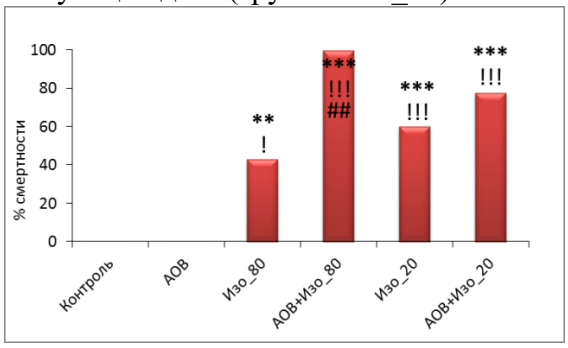


Рисунок 39. Смертность крыс после введения изопротеренола в двух дозах (%), *** p<0,001, ** p<0,01 - отличие от группы Контроль, !!! p<0,001, ! p<0,05 - отличие от группы АОВ, ## p<0,01- отличие от группы Изо-80, критерий Z'.

При введении изопротеренола в дозе 80 мг/кг животные группы АОВ+Изо-80 погибали вследствие острой сердечной и дыхательной недостаточности. Кардиотоксический эффект изопротеренола (β-адреномиметик) был более выражен у данной группы животных, подвергшихся влиянию микрогравитации за полгода до

моделирования ИМ. 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.

Наибольшее влияние на массу тела оказало антиортостатическое вывешивание (группы АОВ и АОВ+Изо-20), восстановление после которого происходило в течение первого месяца наблюдения. Развитие отсроченного экспериментального ИМ на изменение массы тела животных значимо не оказало влияния, приводя к непродолжительному снижению массы тела крыс.

ЭКГ

В группах АОВ наблюдали тенденцию к снижению ЧСС на следующие сутки после моделирования ИМ. В группе Изо-20 такого изменения выявлено не было. Через месяц после развития отсроченного ИМ наблюдали снижение данного показателя в группах Изо-20 и АОВ+Изо-20 с продолжением данной тенденции в группе АОВ+Изо-20 и через 3 месяца.

Через 1 неделю после моделирования ИМ было выявлено снижение амплитуды зубца R в I стандартном отведении в группе с введением изопротеренола (рисунок 44А), значимо отличающееся в группе АОВ+Изо-20 от группы АОВ, и увеличение длительности интервала PQ в группе Изо-20 по сравнению с АОВ+Изо-20 (рисунок 44Б). Снижение амплитуды зубца R, как и увеличение длительности интервала PQ являются характерными особенностями экспериментального ИМ. Через 4 месяца значимых изменений амплитудно-временных характеристик PQRST-комплекса не выявлено.

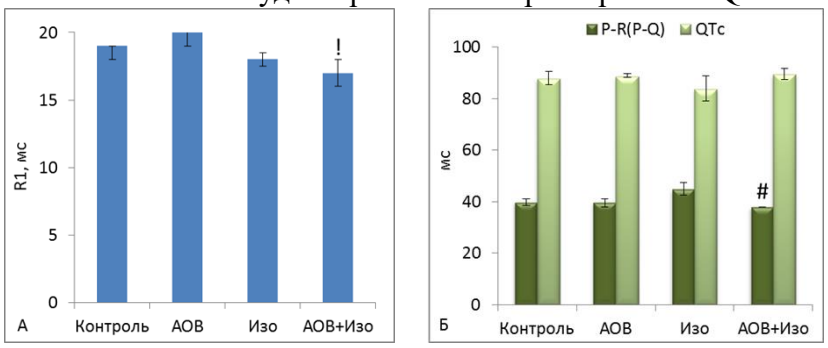


Рисунок 40. Изменения PQRST комплекса через 1 неделю. А – изменение амплитуды R1-зубца. Б – длительность интервалов PQ и QTc. ! p<0,05 – сравнение с группой АОВ, # p<0,05 – сравнение с группой Изо-20, критерий Z'.

Высокий процент аритмий (таблица 9) выявили в группе АОВ+Изо-20, в группе Изо-20 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 9. 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. Отсроченный ИМ, которому предшествовало двухнедельное АОВ, в большей степени влияет на лейкоцитарную формулу крови, вызывая относительные нейтропению и лимфоцитоз.

Через 4 месяца наблюдали противоположные изменения в количестве клеток крови в группах АОВ и АОВ+Изо-20, достигающие уровня статистической значимости только по сравнению друг с другом. В группе АОВ произошло снижение общего количества лейкоцитов за счет нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов, а в группе АОВ+Изо-20, наоборот, повышение содержания данных клеток.

Обобщая результаты, можно обратить внимание на следующие особенности развития патологического процесса. 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. 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. Частота аритмий и появление патологического зубца Q имеет тенденцию к повышению в группе с моделированием инфаркта после АОВ. В анализе крови при инфаркте на фоне АОВ значимо выше были проявления воспалительной реакции, выражавшиеся в лейкоцитозе с повышением количества палочкоядерных нейтрофилов. Это происходило на фоне лимфопении спровоцированной АОВ. 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 отличии от АОВ, когда преобладали частицы большого диаметра, и «чистого» инфаркта с большей долей частиц малого диаметра. Моделирование инфаркта через 4 месяца после вывешивания потребовало коррекции первоначальной схемы введения изопротеренола из-за 100% смертности экспериментальных животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая все полученные данные, можно с определенностью сказать, что модели микрогравитации изменяют течение таких патологических процессов как воспаление, ишемия и некроз тканей (рисунок 41). 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 стенки 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.

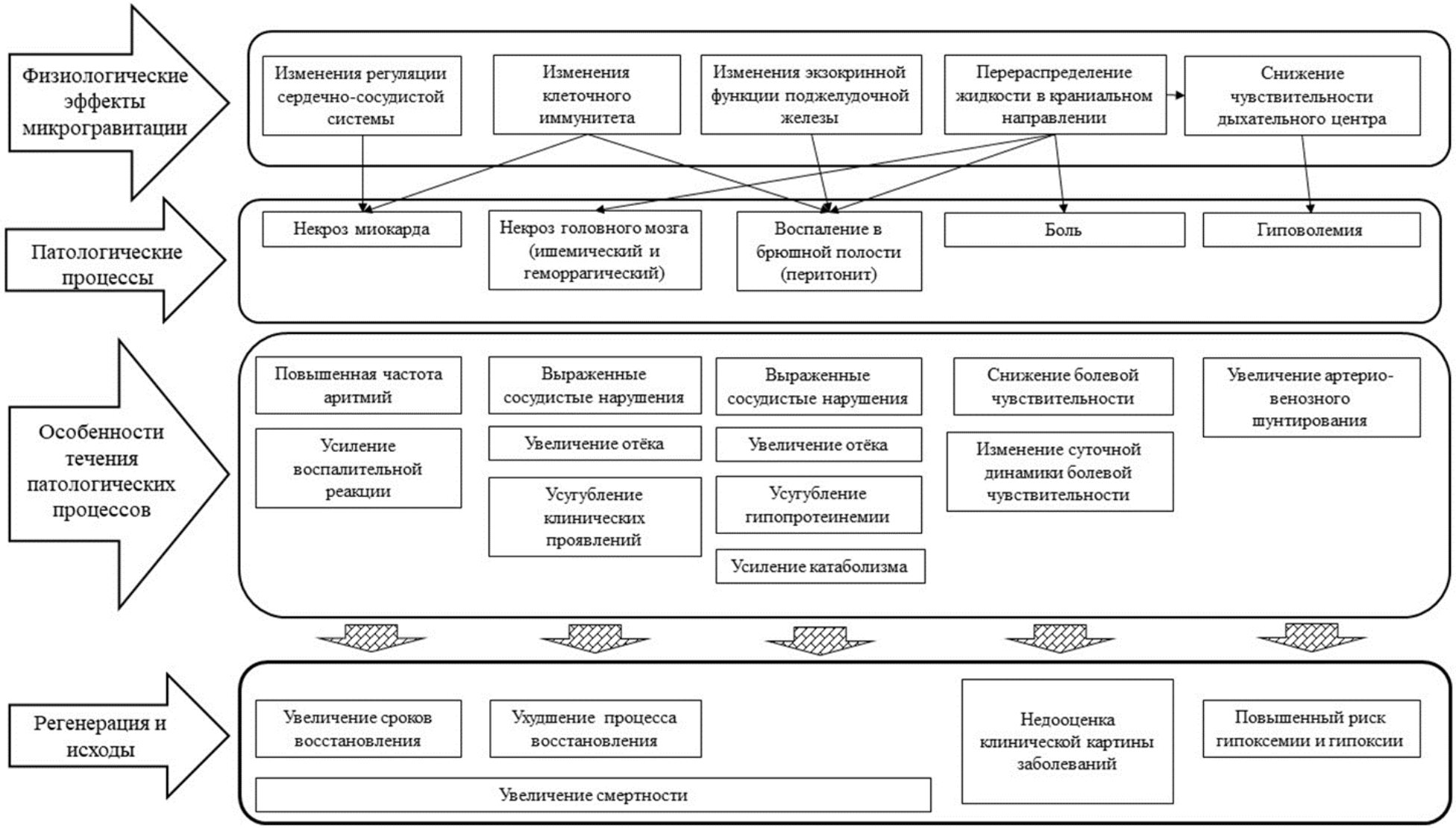


Рисунок 41. Взаимосвязь физиологических эффектов микрогравитации и особенностей типовых патологических процессов.

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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Перфилов Д.В., **Баранов М.В.**, Черногоров Р.В. Способы оценки ноцицептивной чувствительности в экспериментальных исследованиях и клинике. Журнал Успехи физиологических наук, 2007, том 38, №2, С. 75-80.
2. Панченков Д.Н., **Баранов М.В.**, Логинов В.А., Серов И.А., Ким П.П., Костин А.Ю., Мороз О.В. Особенности течения острого панкреатита в условиях моделирования эффектов микрогравитации (экспериментальное исследование). Журнал Анналы хирургической гепатологии. – 2009. – Т. 14. № 2. – С. 89-93.
3. Романова Г.А., Пальцын А.А., Шакова Ф.М., Константинова Н.Б., **Баранов М.В.**, Баранов В.М. Структурные и функциональные особенности префронтальной коры мозга крыс после 14-суточной антиортостатической гипокинезии. Журнал Авиакосмическая и экологическая медицина 2011, № 3, С. 39-43.

4. Баранов В.М., Попова Ю.А., Ковалев А.С., **Баранов М.В.** Изменения чувствительности центрального дыхательного механизма в условиях 21-часовой антиортостатической гипокинезии. Журнал Авиакосмическая и экологическая медицина. 2011, № 4, С. 35-38.
5. Астахов Д.А., **Баранов М.В.**, Панченков Д.Н., Пальцын А.А., Свиридкина Н.Б., Дубровин И.П., Комиссарова С.В., Нечунаев А.А. Морфологические аспекты влияния антиортостатической гипокинезии на течение экспериментального перитонита. Журнал Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2012. Т. V. № 2. С. 258 – 263.
6. **Баранов М.В.**, Перфилов Д.В., Ковалев А.С., Репенкова Л.Г., Черногоров Р.В. Изменения порога болевой реакции у крыс после 21-суточного вывешивания. Журнал Авиакосмическая и экологическая медицина 2012. Т. 46. № 4. С. 53-55.
7. Астахов Д.А., **Баранов М.В.**, Панченков Д.Н. Физиологические эффекты микрогравитации как факторы риска заболеваний в космическом полёте. Журнал Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2012, №2, С.-70-76.
8. Панченков Д.Н., **Баранов М.В.**, Астахов Д.А., Нечунаев А.А., Леонов С.Д., Бехтева М.Е. Биохимические аспекты влияния антиортостатической гипокинезии на течение экспериментального перитонита. Журнал Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2013, №1, 56-60.
9. Baranov V.M., **Baranov M.V.**, Popova Y.A., Kovalev A.S. Changes in the sensitivity of the central respiratory mechanism during a 21-h bedrest. Журнал Human Physiology. 2013. Т. 39. № 7. С. 746-749.
10. **Баранов М.В.**, Архипова Е.Н., Лебедева М.А., Хлебникова Н.Н, Медведева Ю.С. Особенности фармакокинетики цефтриаксона в условиях антиортостатической гипокинезии у крыс. Журнал Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2014, №1, С.-28-31.
11. **Баранов М.В.**, Катунцев В.П., Шпаков А.В., Баранов В.М. Метод наземного моделирования физиологических эффектов пребывания человека в условиях гипогравитации. Журнал Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015, №9, С. 392-396.
12. **Баранов М.В.**, Ковалев А.С., Перфилов Д.В., Черногоров Р.В., Репенкова Л.Г. Влияние моделированной микрогравитации на порог болевой чувствительности у человека при однократном приеме кеторолака. Журнал Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2015, №2, С.-23-28.
13. Астахов Д.А., Панченков Д.Н., Лискевич Р.В., **Баранов М.В.** Особенности течения хирургических заболеваний в условиях моделированной микрогравитации. Журнал Медицина экстремальных ситуаций. 2016. №1. С. 91-99.
14. **Baranov M.V.**, Katuntsev V.P., Shpakov A.V., Baranov V.M. A method of ground simulation of physiological effects of hypogravity on humans. Журнал Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2016. Т. 160. № 3. С. 401-405.
15. **Баранов М.В.**, Захаров С.Ю., Новикова О.Н., Руденко Е.А. Программа медицинского обследования космонавтов, завершивших летную деятельность. Журнал Медицина экстремальных ситуаций. 2016. №1. С. 19-24.
16. Лебедева М.А., Медведева Ю.С., Алчинова И.Б., Полякова М.В., Яковенко Е.Н., Арутюнян А.В., **Баранов М.В**., Карганов М.Ю. Молекулярные корреляты острого инфаркта миокарда в эксперименте и клинике. Журнал Патогенез. 2018. Т. 16. № 3. С. 50-56.
17. Захаров С.Ю., Руденко Е.А., Новикова О.Н., **Баранов М.В.** Структура заболеваемости летчиков-космонавтов различных возрастных групп после завершения летной деятельности. Журнал Авиакосмическая и экологическая медицина. 2018. Т. 52. № 3. С. 38-41.

18. Панченков Д. Н., **Баранов М.В.**, Зайратьянц О.В., Астахов Д.А., Лискевич С.Е., Лискевич Р.В. Лабораторные особенности течения хирургической инфекции мягких тканей в условиях моделированной микрогравитации. Журнал Инфекции в хирургии. – 2019. – Т. 17. – №. 2-3. – С. 17-21.
19. Лебедева М.А., Медведева Ю.С., Золотов Н.Н., **Баранов М.В.**, Карганов М.Ю. Ранние эффекты действия моделированной микрогравитации на развитие экспериментального инфаркта миокарда. Журнал Медицина экстремальных ситуаций. 2020.- Т. 22. - №1. - С. 91-103.
20. Захаров С.Ю., Руденко Е.А., Новикова О.Н., **Баранов М.В.** Сердечно-сосудистые заболевания у летчиков-космонавтов после завершения летной деятельности. Журнал Медицина экстремальных ситуаций. 2020.- Т. 22. - №2. - С. 193-198.
21. Лебедева М.А., Медведева Ю.С., **Баранов М.В.**, Арутюнян А.В., Золотов Н.Н., Карганов М.Ю. Оценка отсроченных эффектов моделируемых факторов космического полета. Журнал Патогенез. – 2021. – Т.19, №1. – С. 37-49.
22. Лебедева М.А., Медведева Ю.С., **Баранов М.В.**, Алчинова И.Б., Деморжи М.С., Золотов Н.Н., Арутюнян А.В., Карганов М.Ю. Сочетанное влияние микрогравитации и ионизирующего излучения на организм крыс в наземном эксперименте. Журнал Патогенез. 2022. Т. 20. № 1. С. 29-41.
23. Лебедева М.А., Медведева Ю.С., **Баранов М.В.**, Золотов Н.Н., Арутюнян А.В., Карганов М.Ю. Особенности развития экспериментального инфаркта миокарда в течение месяца после действия моделированной микрогравитации. Журнал Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2022. Т. 66. № 3. С. 34-44.
24. Лебедева М.А., Медведева Ю.С., **Баранов М.В**., Алчинова И.Б., Деморжи М.С., Золотов Н.Н., Арутюнян А.В., Карганов М.Ю. Оценка сочетанного влияния ионизирующего излучения и микрогравитации на развитие отсроченного экспериментального инфаркта миокарда. Журнал Патогенез. 2023. Т. 21. № 2. С. 31-40.
25. Лебедева М.А., Медведева Ю.С., **Баранов М.В.**, Арутюнян А.В., Карганов М.Ю. Влияние сочетанного воздействия моделированной микрогравитации и ионизирующего излучения на развитие экспериментального инфаркта миокарда у крыс в течение двух недель. Журнал Патогенез. 2023. Т. 21. № 4. С. 39-47.
26. Захаров С.Ю., **Баранов М.В.**, Каспранский Р.Р. Влияние общей продолжительности космических полётов на структуру заболеваемости и тяжесть течения болезней у космонавтов-ветеранов по результатам углублённого медицинского обследования. Журнал Авиакосмическая и экологическая медицина. 2023. Т. 57. № 6. С. 5-10.