

Розвиток легень і гравітаційні навантаження

О.О. Масіцька

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, Київ

Резюме. *Изучались особенности развития и ветвления бронхиального дерева плодов белых крыс после воздействия на организм самок гипергравитации в краниокаудальном направлении (4g) с 9-го по 13-й, 17-й и 19-й дни беременности. Использованы гистологические и морфометрические методы. Установлено, что воздействие измененной гравитации замедляет темп развития бронхиального дерева и влияет на углы ветвления субсегментарных бронхов — они достоверно становятся меньшими по сравнению с контролем.*

Ключові слова: *легкие, развитие, гипергравитация, крысы.*

Summary. *The peculiarities of bronchial tree development and branching in albino rat fetuses under the conditions of maternal exposure to a 4g hypergravitation in craniocaudal direction from day 9 to day 13, 17 and 19 of pregnancy were studied. There were used histological and morphometric methods. It was revealed that the influence of changed gravitation delays the development of bronchial tree and reliably decreases the angles of subsegmental bronchi branching.*

Key words: *lung, development, hypergravity, rats.*

Постановка проблеми. За даними літературних джерел, існує зв'язок фізіологічних процесів, які відбуваються в організмі, з дією гравітації. При цьому більшість авторів вважає, що вплив на клітини змін у гравітаційному полі є стрес-фактором, на який вони реагують комплексом відповідних неспецифічних реакцій. Особливості цих реакцій пов'язані з напрямом (вектором) і значенням сили тяжіння. Про це свідчать результати досліджень впливу на організми як зниженої, так і підвищеної гравітації.

Дія підвищених гравітаційних навантажень на організм вивчалась в основному в модельних умовах на центрифугах. Так, показано, що гравітаційні перевантаження в напрямку голова—таз, особливо повторні та довготривалі, призводять до значної компенсаторно-структурної перебудови всіх ланцюгів гемомікроциркуляторного русла органів і тканин з наростаючими значеннями негативних ефектів у напрямку перевантажень від голови до таза [1]. При постійному (34 доби) обертанні на центрифусі відмічаються ознаки порушення гемо- і ліквородинаміки, підвищення ступеня проникності стінок мікросудин, набряк тканини мозку. Гравітаційні перевантаження обумовлюють гіперфункцію симпатичного відділу вегетативної нервової системи, підвищений викид гранул катехоламінів із клітин мозко-

вої речовини наднирників у кров та інші порушення в діяльності організму.

Дихальна система, поряд із серцево-судинною і опорно-руховою, знаходиться у полі зору як клініцистів, так і експериментаторів з часів перших космічних польотів. Це пов'язано із перебудовою об'єктів досліджень у штучному газозовому середовищі, підвищеної запилованості гермооб'ємі, змінених умовах гравітації (гіпергравітація при злеті і посадці і невагомисть у польоті). При цьому вивчались, в основному, фізіологічні показники системи дихання. Лише невелика кількість праць присвячена морфологічному вивченню легень тварин в умовах невагомості або в наземних експериментах, що імітували фактори космічного польоту [3, 4]. Деякі дослідження проведені на культурі тканини легень [10]. Однак питання впливу гравітації на легені в процесі їх розвитку залишається до цього часу мало вивченим.

В ембріональному розвитку всіх організмів мають місце направлені морфогенетичні процеси. Розвиток органів та їх систем має векторну спрямованість, у багатьох систем органів векторні морфогенетичні процеси виражені подібним чином. До таких органів належать, наприклад, нирки, легені, молочні залози [8], які формуються завдяки морфогенезу галуження попередніх епітеліальних структур. Цим структу-

рам необхідно визначитися де починати, коли, де і в якому напрямку давати відгалуження. Всі ці рішення потребують регуляції клітинної проліферації, апоптозу, інвазивності, переміщення клітин і міжклітинних взаємодій.

Під час розвитку організмів за умов зміненого вектора і сили гравітації перебіг векторних морфогенетичних процесів змінений, тобто попереднім структурам важко визначитися коли, де і в якому напрямку давати відгалуження. Ця гіпотеза базується на численних і доказових даних, отриманих під час розвитку рослин і нижчих тварин за умов зміненої гравітації, як за силою, так і за напрямленістю вектора.

У зародків білого щура трахеопульмональний зачаток з'являється, за даними Keibel P., 1937, Малишевської В., 1966 [2] і підтверджено останнім часом [9], на 12-ий день внутрішньоутробного розвитку. В цей час зачаток трахеї відокремлюється від первинної кишки. Галуження бронхів в основному дихотомічне, іноді, особливо на рівні респіраторних бронхіол, — трихотомічне або моноподіальне. Головну роль у морфогенезі бронхіального дерева відіграють клітини епітеліального шару, який спочатку одношаровий (первинна кишка), потім стає багатшаровим, а у міру розвитку бронхів знову перетворюється на одношаровий. Новоутворені епітеліальні трубки врастають в оточуючу мезенхіму, яка дає в подальшому сполучнотканинну компоненту легень. Тісний взаємозв'язок клітин епітелію і мезенхіми як на клітинному, так і на системному рівнях, є необхідною умовою морфогенезу легень [5—7].

Мета дослідження — встановити вплив гравітації на розвиток легень плодів білих щурів у динаміці модельного експерименту.

Матеріали та методи дослідження. Досліди проводили на вагітних самках білих щурів, яких піддавали впливу гіпергравітації 4g у напрямку голова—таз на центрифусі по 3 год щодня в один і той самий час з 9-ї до 13-ї (I група), 17-ї (II група) і 19-ї (III група) доби вагітності (ДВ). До кожної групи був відповідний контроль. Плоди забирали для обробки за загальноприйнятими гістологічними методиками на 14-ту (I група), 18-ту (II група) і 20-ту (III група) ДВ.

Тварин забивали із дотриманням правил етаназії. Плоди виймали із рогів матки і плодових оболонок, фіксували в 10 %-му нейтральному формаліні. Далі за загальноприйнятими гістологічними методиками заливали у парафін, виготовляли зрізи товщиною 5—7 мкм і фарбували їх гематоксиліном і еозином за Ван Гізон, вико-

нували PAS-реакцію. Для аналізу кутів галуження вимірювали кути, які утворюють субсегментарні бронхи 2—4-го порядків, як найбільш репрезентативну вибірку для наших цілей на цій стадії розвитку бронхіального дерева у щурів.

Результати дослідження та їх обговорення. Згідно з теорією критичних періодів (КП), в ембріональному розвитку щурів виділяють 2 таких періоди, що стосуються морфогенезу легень: 11—12-та ДВ (утворення трахеального зачатка) і 19—20-та ДВ (початок каналікулярної стадії). Будь-які неадекватні впливи в цей час особливо несприятливі для розвитку легень. З 11-ї до 19-ї ДВ триває перша стадія розвитку легень щурів — залозиста. З 19-ї ДВ легені плодів знаходяться на каналікулярній стадії, тобто в періоді найбільш інтенсивного бронхоутворення. У наших дослідах вплив гіпергравітації охоплював повністю перший КП у тварин I групи. Тварин II групи забивали перед початком другого КП, а тварин III групи піддавали впливу гіпергравітації і протягом початку другого КП.

На 14-ту добу ембріогенезу (I група) в ембріонів піддослідних тварин шар мезенхіми легень менше розвинутий, ніж у ембріонів відповідної контрольної групи, поділ її на частки слабо виражений, епітеліальні трубки недорозвинуті. Мезенхімні клітини починають диференціюватися навколо епітеліальних трубок — вони концентруються і витягуються, намічаючи майбутні м'язовий і фіброзний шари бронхів. У контролі цей шар складається з 3—4 рядів клітин і є неперервним, тоді як у досліді — з 1—2 рядів клітин, а епітелій взагалі часто не оточений суворо орієнтованими клітинами мезенхіми.

У плодів II групи (18-та ДВ), порівняно з контролем, відмічається незначне відставання процесів галуження бронхіального дерева та диференціювання мезенхімної компоненти легень. На цей час у легенях плодів розрізняють переважно більшість відділів бронхіальної системи легень, аж до дрібних бронхів. Суттєвого відставання процесів галуження бронхіального дерева у цей період морфогенезу нами не відмічено. Мезенхімні клітини у піддослідних тварин розташовані менш упорядковано, хаотичніше, ніж у контролі, навколо зачатків майбутніх бронхів концентрується менше шарів витягнутих мезенхімних клітин, які утворюють сполучнотканинну компоненту повітроносних шляхів легень.

На 20-ту ДВ (III група) в легенях плодів щурів розвинуті всі генерації бронхів, включно до внутрішньочасткових (сегментарні, субсегментарні, між- і внутрішньочасткові). Це призводить до

того, що епітеліальні трубки, які на цей час усі відкриті, складають на зрізі більшу частину тканини легень, а мезенхіма “витісняється”. Клітини її ущільнюються, втрачають відростки, тобто диференціюються. І якщо у плодів контрольної групи все поле легень, аж до найдистальніше розташованих ділянок усіх часток, пронизане бронхіальними трубками різного калібру, то у плодів III групи спостерігається затримка процесу бронхоутворення, зустрічаються поля слабо диференційованої мезенхіми, майже не пронизаної бронхіальним деревом. Установлена на плодах 18-ої ДВ тенденція до затримки організації клітин мезенхіми навколо зачатків бронхів стає більш вираженою. Якщо у контрольних тварин навколо сегментарних бронхів концентруються 4—5 неперервних шарів витягнутих мезенхімних клітин, то у плодів піддослідної групи таких шарів менше і вони переривчасті.

Ми перевірили, як впливає зміна вектора і сили гравітації на кути галуження бронхів у тварин цієї групи. Встановлено, що середній кут галуження цих бронхів у контрольних тварин становить $77^\circ \pm 3,02$, а у піддослідних — $69^\circ \pm 2,98$ (відмінність від контролю достовірна). Крім цього, у плодів, яких піддавали експериментальному впливу, кути галуження бронхів мають тенденцію до усереднення. Так, варіабельність цього показника у контролі була від 22 до 138° , а в досліді — від 42 до 122° при явному превалюванні середніх значень.

Таким чином, вплив гіпергравітації спричиняє затримку розвитку бронхіального дерева та мезенхімної компоненти легень плодів білих щурів, особливо виражену тоді, коли ця дія триває протягом не тільки першого, а й другого критичного періоду морфогенезу легень.

Висновки

- Вплив гіпергравітації викликає затримку розвитку легень плодів білих щурів, що проявляється у відставанні диференціювання мезенхімної та епітеліальної компонент легень, що формуються.

- Мають місце прояви зміни епітеліо-мезенхімних співвідношень: зменшується кількість

концентричних шарів мезенхімних клітин навколо епітеліальних трубок, подекуди із втратою цілісності шару і концентричності.

- Ці зміни впливають на кути галуження повітроносних шляхів середньої ланки — кути стають достовірно меншими, спостерігається тенденція до їх усереднення.

- Можна констатувати, що зміна вектора і сили гравітації впливає на епітеліо-мезенхімну взаємодію у процесі морфогенезу легень.

Як впливає змінена епітеліо-мезенхімна взаємодія на зміну кутів галуження бронхіального дерева і морфогенез легень у цілому — це предмет наших подальших досліджень.

1. Длусская И.Г., Власов В.Б. Влияние повторных воздействий перегрузок “голова—таз” на состояние микроциркуляторного русла некоторых органов белых крыс // Материалы конференции “Космическая биология и авиакосмическая медицина”. — 10—14 июня 2002 г. — М., 2002. — С. 133—134.

2. Легкое в норме / Отв. ред. И.К. Есипова. — Новосибирск: Наука, 1975. — 286 с.

3. Тихонов К.Б., Байрон В.Г. Влияние гравитации на интенсивность и размеры патологических тканей в легких // Вестн. рентгенол. и радиол. — 1981. — № 4. — С. 64—70.

4. Яковлева В.И. Морфологические изменения в легких крыс после полета на биоспутнике “Космос-936” // Космич. биол. и авиакосм. мед. — 1980. — 4. — С. 31—35.

5. Cardoso Wellington V. Lung morphogenesis revisited: Old facts, current ideas // Dev. Dyn. — 2000. — 219, 2. — P. 121—130.

6. Demayo F., Minoo P., Plopper C.G., Schuger L., Shannon J., Torday J.S. Mesenchymal-epithelial interactions in lung development and repair // J. of Histochem. and Cytochem. — 2002. — 283, 3. — P. L510—L517.

7. Hogan Brigid L.M. Morphogenesis // Cell. — 1999. — 96, 2. — P. 225—233.

8. Pohl M., Stuart R.O., Sakurai H. et al. Branching morphogenesis during kidney development // Annu. Rev. Physiol. — 62. — Palo Alto, 2000. — P. 595—620.

9. Qi Bao Quan, Beasley Spenser W. Stages of normal tracheo-bronchial development in rat embryos: Resolution of a controversy // Dev. Growth and Different. — 2000. — 42, 2. — P. 145—153.

10. Spooner B.S., Hardman P., Paulsen A. Gravity in mammalian organ development: differentiation of cultured lung and pancreas rudiments during spaceflight // J. Exp. Zool. — 1994. — 269, 3. — P. 212—222.

Надійшла 18.04.2005 р.