

¹Шишкина В.В., ²Алексеева Н.Т., ^{3,4}Клочкова С.В.
ГРАВИТАЦИОННО-ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ
ВОЛОКНИСТОГО КОМПОНЕНТА
ДЕРМЫ КОЖИ МЫШЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹НИИ экспериментальной биологии и медицины ФГБОУ ВО
«Воронежский государственный медицинский университет им. Н. Н.
Бурденко» Минздрава России, Воронеж, Россия

²ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет
им. Н. Н. Бурденко» Минздрава России, Воронеж, Россия

³ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»,
Москва, Россия

⁴ГАУЗ «Московский научно-практический центр медицинской
реабилитации, восстановительной и спортивной медицины Департамента
здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

Внимание космобиологов, врачей и ученых из разных областей науки направленно на изучение фундаментальных механизмов перестройки органов человека в условиях измененной гравитации и увеличения продолжительности космических полетов для освоения рубежей дальнего космоса. Изучение физиологических механизмов перестройки волокнистого компонента и межклеточного матрикса соединительной ткани позволяет открыть новые пути эффективной реализации функциональных способностей ткани, в том числе регенерационных процессов в условиях невесомости. Осуществлен морфологический анализ биоматериала лабораторных животных эксперимента Rodent Research-4 групп орбитального полета и контрольных групп. Исследовали фибриллотропные характеристики дермы кожи, а также вовлеченные в процесс ремоделирования волокнистого компонента тучные клетки. Отмечено влияние измененной силы гравитации на распределение тучных клеток дермы с активизацией выведения компонентов секрета в межклеточный матрикс и обеднение запасов преформированных медиаторов, разобщение локализации тучных клеток с фибробластическим диффероном, изменение соотношения коллагена I и III типов по сравнению с группами контролей.

Ключевые слова: орбитальный полет, волокнистый компонент дермы, соединительная ткань, тучные клетки.

Shishkina V.V., Alekseeva N.T., Klochkova S.V.
GRAVITATION-BASED CHANGES IN THE FIBROUS
COMPONENT OF THE MICE SKIN IN EXPERIMENT

Research Institute of Experimental Biology and Medicine FSBEI HE « N.N. Burdenko Voronezh state medical university» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Voronezh, Russia

FSBEI HE « N.N. Burdenko Voronezh state medical university» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Voronezh, Russia

Peoples' Friendship University, Moscow, Russia

Moscow Research-Practical Centre of Medical Rehabilitation, Recovery's and Sport's Medicine, Moscow, Russia

The attention of cosmobiologists, doctors and scientists from various fields of science is directed to the study of the fundamental mechanisms of restructuring of human organs in conditions of altered gravity and an increase in the duration of space flights to master the frontiers of deep space. The study of the physiological mechanisms of restructuring of the fibrous component and intercellular matrix of connective tissue makes it possible to discover new ways of efficiently realizing the functional abilities of the tissue, including regeneration processes in zero gravity.

Morphological analysis of the biomaterial of laboratory animals of the Rodent Research-4 experiment of the orbital flight groups and control groups was carried out. The fibrillotropic characteristics of the dermis of the skin, as well as the mast cells involved in the process of remodeling of the fibrous component, were studied. The effect of the altered force of gravity on the distribution of mast cells in the dermis with the activation of the excretion of secretome components into the extracellular matrix and depletion of the reserves of preformed mediators, the disconnection of the localization of mast cells with fibroblastic differon, and a change in the ratio of collagen types I and III compared to the control groups were noted.

Key words: *orbital flight, fibrous component of the dermis, connective tissue, mast cells.*

Космические полеты, имеющие тенденцию к увеличению продолжительности времени пребывания в условиях с измененной гравитацией ставят перед научным сообществом задачи, связанные с разработкой мер по снижению неблагоприятных физиологических факторов. Формирование адекватных условий функционирования организма и поддержание гомеостаза во многом определяются соединительной тканью, микроокружение которой создает резистентность внутренних органов к вызовам окружающей среды [2, 6]. Медиаторы воспаления, воздействуя в условиях измененной гравитационной силы активизируют различные клетки, в частности тучные, играющие важную роль в перестройке как волокнистых элементов, так и аморфного вещества соединительной ткани [6]. Популяция тучных клеток (ТК), обладая широким арсеналом биологически активных молекул и высокоселективным рецепторным аппаратом эффективно контролируют состояние молекулярно-биологических параметров соединительной ткани специфического тканевого микроокружения, регулируют изменения гистоархитектоники внутренних органов. Имея повсеместное расположение в организме млекопитающих и человека эти клетки являются удобной моделью изучения ряда физиологических эффектов, а также их участия в развитии патологии.

Целью работы явилось изучение морфофункциональных особенностей популяции ТК и волокнистого компонента дермы кожи мышей линии C57BL/6N после 24-суточного космического полета и нахождения животных в условиях с измененной гравитацией.

Материалы и методы. Эксперимент «Rodent Research-4» (RR4), выполненный в 2017 году на мышах линии C57BL/6J включал в себя три экспериментальные групп контролей: виварийный (V, n=10), базальный (B, n=10), наземный (G, n=10), а также группу орбитального полета (F, n=10). Объектом изучения была выбрана кожа бедра мышей, как орган, имеющий

наибольшее представительство популяции ТК в организме. Сразу после старта космического корабля SpaceX10 мыши группы В подвергались эвтаназии. В группе G имитировались условия содержания грызунов на МКС с использованием специальной наземной экспериментальной камеры (Космический центр им. Джона Кеннеди, США), время пребывания повторяло полетный эксперимент. Группа животных F испытывала нагрузки космического полета в течение 21-24 суток, с проведением эвтаназии непосредственно в условиях невесомости, на борту МКС. Взятые образцы подвергались заморозке и содержались в пакетах со льдом до приземления на Землю (протокол НАСА-Роскосмос "Utilization Sharing Plan on-board ISS"). Морфологические исследования проводились на базе НИИ экспериментальной биологии и медицины ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Минздрава России. После стандартного протокола пробоподготовки [2] материал окрашивался раствором Гимза, Sirius Red, а также комбинированной методикой импрегнации серебром и раствором Гимза [1, 3, 5]. Морфометрию образца кожи экспериментальных животных проводили на микроскопе ZEISS Axio Imager.A2 (Carl Zeiss, Germany) с использованием режима световой и поляризационной микроскопии. Количественно оценивали общее число ТК, функциональные типы, а также свободно расположенные фрагменты ТК. Кроме того, учитывалась частота прилегания ТК друг к другу, а также солоканизация ТК с клетками фибробластического дифферона. Качественный состав коллагеновых волокон соединительной ткани изучался в поляризованном свете при окрашивании красителем Sirius Red [5]. Определение соотношения коллагенов I и III типов основывалась на цветовых спектрах, в поляризованном свете для I типа коллагена – свечение красным цветом, III типа – зеленым. Установление соотношения I и III типов коллагена проводилось при помощи программы Imager J путем анализа цветовой гистограммы каждого поля зрения. Абсолютные показатели красного и зеленого цветов спектра переводились в относительные величины и выражались в процентном соотношении относительно друг друга с учетом стандартного отклонения [4]. Достоверность различий оценивалась по t-критерию Стьюдента в случае нормального распределения выборки, при его отсутствии использовался непараметрический статистический U-критерий Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение. Отмечены морфологические изменения по всем изучаемым параметрам. В частности, изменялись функциональные особенности распределения ТК кожи в условиях невесомости по сравнению с группами контролей. Большую часть популяции ТК полетной группы составляли клетки с морфологическими признаками секреции при окрашивании раствором Гимза. Соотношение гранулированных и дегранулированных форм менялось в сторону активного расходования медиаторов по сравнению с контролем. Существенно уменьшались размеры как самих тучных клеток, так и их секреторных гранул. Изучение

микропрепаратов кожи с использованием поляризационной микроскопии при окрашивании красителем Sirius Red показало изменения содержания I и III типов коллагеновых волокон в сторону увеличения незрелого коллагена III типа (80,8/19,2%) по отношению к контрольным группам. Наблюдалась диссоциация ТК с представителями фибробластического дифферона и редкое выявление ретикулярных волокон по сравнению с группами контролей дермы кожи.

Выводы. Полученные морфологические свидетельства позволяют предполагать о грависенситивности компонентов дермы кожи. Вместе с изменением гравитационного сигнала меняются и гемодинамические условия, рН, играющий важную роль в процессе фибриллогенеза, содержание белков, что приводит к перестройке специфического тканевого микроокружения. Условия невесомости и длительность космического полета формируют адаптивные настройки органов, содержащих соединительную ткань в своем составе. А механизмы физиологической регенерации волокнистого компонента соединительной ткани не могут быть воплощены в полном объеме, что следует учитывать в условиях профессиональной деятельности космонавтов на борту МКС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атякшин, Д. А. Гистохимия ферментов: метод. пособие для студ., ординаторов и аспирантов мед. и фарм. вузов / Д. А. Атякшин, И. Б. Бухвалов, М. Тиманн. Воронеж: Научная книга, 2016. –С. 122.
2. Шишкина, В. В., Атякшин Д.А. Тучные клетки и фибриллогенез коллагена в условиях невесомости. / В.В. Шишкина, Д.А. Атякшин// Журнал анатомии и гистопатологии. 2019;8(3):79-88. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2019-8-3-79-88>
3. Микроскопическая техника: руководство / под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова. – Москва: Медицина, 1996. – 544 с.
4. Иванов, И. С., Темирбулатов В.И., Клеткин М.Е., Окунев О.А., Иванова И.А. Соотношение коллагена I и III типов в легких и коже у пациентов с буллезной эмфиземой легких, осложненной спонтанным пневмотораксом // Новости хирургии. 2018. №3.
5. Adachi, E. A comparison of the immunofluorescent localization of collagen types I, III, and V with the distribution of reticular fibers on the same liver sections of the snow monkey (*Macaca fuscata*) / E. Adachi, T. Hayashi, P. H. Hashimoto // Cell and tissue research. – 1991. – Vol. 264, N 1. – P. 1–8.
6. Guidolin, D. Spatial distribution of mast cells around vessels and glands in human gastric carcinoma / D.Guidolin, S. Ruggieri, T. Annese, [et al.] // Clin Exp Med. – 2017.– Vol.17. – P.531–539. doi:1007/s10238-017-0452-7