

*Л.М. Ерофеева<sup>1</sup>, Г.П. Дорохович<sup>2</sup>*

## **ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МИКРОГРАВИТАЦИИ НА ГИСТОФИЗИОЛОГИЧЕСКУЮ ХАРАКТЕРИСТИКУ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В ЛЕГКИХ КРЫС**

*<sup>1</sup>«Научно-исследовательский институт морфологии человека им. академика А.П. Авцына» ФГБНУ "Российский научный центр хирургии им. академика Б.В. Петровского"; г. Москва, Россия*

*<sup>2</sup>УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь*

*Изучена популяция тучных клеток (ТК) в легких белых крыс самцов Вистар, после длительного пребывания в антиортостатическом положении (АНОГ) в однократном и повторном режимах. При однократном 30-ти суточном АНОГ численность популяции ТК в легких резко возрастает, что, по-видимому, характеризует значительное напряжение регуляторных механизмов в экстремальных для органа условиях. Повторное 14-ти суточное воздействие АНОГ в меньшей степени вызывало реакцию ТК, однако направленность изменений сохранялась. Анализ цитограмм показал, преобладание у контрольных животных очень светлых и светлых клеток, а также клеток сильно и умеренно дегранулированных, а у опытных животных значительную часть популяции составляли темные и очень темные клетки и клетки с умеренной и слабой степенью дегрануляции. Что в наиболее полной мере отвечало потребностям органа.*

**Ключевые слова:** *тучная клетка, гипокинезия, интерстиций легких, плевра*

*L.M. Erofeeva, H.P. Dorokhovich*

## **EFFECT OF LONG-TERM EXPOSURE TO MICROGRAVITY ON HISTOPHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MAST CELLS IN RAT LUNGS**

*The population of mast cells (MAC) in the lungs of white rats of male Wistar after a long stay in the anti-orthostatic position (ANOG) in single and repeated regimens was studied. With a single 30-day ANOG, the number of TC population in the lungs increases sharply, which apparently characterizes a significant strain of regulatory mechanisms in extreme conditions for the organ. Repeated 14-day exposure to ANOG caused a TC reaction to a lesser extent, but the direction of changes remained. Analysis of cytograms showed a predominance of very light and light cells, as well as strongly and moderately degranulated cells in control animals, and in experimental animals, a significant part of the population consisted of dark and very dark cells and cells with a moderate and weak degree of degranulation. Which most fully met the needs of the body.*

**Keywords:** *mast cell, hypokinesia, intersticia lungs, pleura*

**Введение.** Тучные клетки обеспечивают поддержание гомеостаза, участвуют в защитных и аллергических реакциях, адаптации организма к действию различных факторов окружающей среды [1, 2]. Проявлением

регуляторной функции ТК служит нарастание их количества в стромах различных органов, функциональная активность которых повышается, вблизи и внутри очагов хронического воспаления, в опухолях и по периферии заживающих ран [3, 4]. При стрессе биологически активные вещества (гепарин, гистамин, простагландины, серотонин) и цитокины, выделяемые тучными клетками, транслируют сигналы вегетативной нервной системы, регулируют тонус кровеносных сосудов и модулируют иммунные реакции. Поэтому изменение цитофизиологического состояния ТК является одним из проявлений стресс-реакции. В связи с этим изучение морфологии ТК при различных стрессовых состояниях является актуальным.

**Цель** настоящего исследования: изучение гистофизиологического состояния тучных клеток в легких крыс при моделировании эффектов микрогравитации.

Микрогравитация, или невесомость - состояние, при котором сила взаимодействия тела с опорой (вес тела), возникающая в связи с гравитационным притяжением, отсутствует. Для моделирования некоторых эффектов микрогравитации применяют антиортостатическую гипокинезию (АНОГ) - ограничение двигательной активности в антиортостатическом положении (фиксация вниз головой под углом 15°). При этом моделируются два эффекта невесомости: отсутствие опорной нагрузки на нижние конечности, вызывающее снижение поступления афферентных экстеро- и проприоцептивных сигналов в головной мозг, и перераспределение жидких сред организма к верхней части тела, приводящее к затруднению оттока крови.

**Материалы и методы:** Работа выполнена на базе Государственного научного центра РФ «Институт медико-биологических проблем РАН». Животные: половозрелые белые крысы самцы Вистар, 40 особей. Для создания эффектов микрогравитации использовали модель длительного (30 суток) вывешивания животных в однократном (1-ая группа) и повторном (2-ая группа) режимах.

Путём мягкой фиксации за хвост животных фиксировали на подвижную основу так, что задние лапки на 1 см. были выше пола. Животных распределили на группы по 10 особей в каждой. Крысы 1-ой опытной группы подвергались 30-ти суточной АНОГ, 2-ой опытной группы после 30 дней АНОГ содержали в условиях вивария 30 суток, а затем повторно вывешивали на 14 суток.

Животных контрольных групп содержали в условиях вивария в течение всего эксперимента и выводили из эксперимента одновременно с опытными крысами. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов (Страсбург, 18 марта 1986 г.) и с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», регламентированных Приказом № 755 Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1987 г.

Материалом для исследования послужили лёгкие. Материал фиксировали 10% нейтральным формалином. Парафиновые срезы толщиной 6 мкм окрашивали гематоксилином-эозином и толуидиновым синим. На гистологических срезах, окрашенных толуидиновым синим, подсчитывали выявляемые ТК на условной единице площади 1 мм<sup>2</sup>. Для характеристики функционального состояния популяции ТК подсчитывали цитограмму, в которой ТК подразделяли по убыванию количества гранул на очень темные, темные, светлые и очень светлые и по степени дегрануляции на слабо, умеренно и сильно дегранулирующие клетки [5]. Определяли индекс дегрануляции (процентное соотношение различных видов дегрануляции) и средний гистохимический индекс, который отражает насыщенность ТК секреторным материалом.

Вариационно-статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы STATISTICA 6.0. Для каждой выборки рассчитывали среднюю арифметическую (M) и стандартную ошибку среднего (m).

**Результаты.** Исследования показали неравномерное распределение ТК в лёгких. Вдоль кровеносных сосудов, вокруг бронхов, бронхиол и в плевре они образуют небольшие скопления или цепочки, в межальвеолярных перегородках встречаются единично расположенные клетки. Количество ТК в интерстиции в 1,5 раза превышает их число в плевре.

Был проведен анализ основных характеристик популяции ТК, результаты которого представлены на диаграммах (рис.1). С целью выявления региональных особенностей была проведена раздельная оценка состояния популяции ТК в плевре и в интерстиции в целом.

Анализ цитограмм ТК показал, что у контрольных животных встречаются в основном очень светлые, светлые и темные клетки (рис. 1А). Очень темные ТК не выявляются. При этом в интерстиции преобладают очень светлые клетки, а в плевре светлые, что вполне логично с функциональной точки зрения. Показатель степени дегрануляции ТК у контрольных животных (рис. 2А, Б) свидетельствует о том, что в интерстиции слабые, умеренные и сильные дегрануляционные процессы выражены в равной степени, а в плевре преобладающими являются умеренные. Содержание сильно дегранулированных ТК минимально и в плевре, и в интерстиции. Гистохимический индекс, характеризующий степень насыщения клеток секреторным материалом, в популяции ТК в плевре достоверно превышает таковой в интерстиции (рис. 2 В).

У экспериментальных животных выявлено увеличение числа ТК и в интерстиции легких, и в плевре. Наиболее выражено увеличение количества выявляемых ТК у животных первой опытной группы, т.е. после однократного 30-ти суточного воздействия АНОГ (в интерстиции в 1,5 раза, в плевре – в 4,4 раза).

После повторного воздействия АНОГ (вторая опытная группа) содержание ТК в интерстиции практически не изменилось по сравнению с

контролем, а в плевре увеличилось в 2,3 раза. Следует отметить, что у экспериментальных животных количество ТК в плевре достоверно преобладало над их содержанием в интерстиции. В интерстиции ТК выявлялись преимущественно в периваскулярных зонах, в наибольшей степени во 2-ой опытной группе, т.е. после повторного воздействия АНОГ.

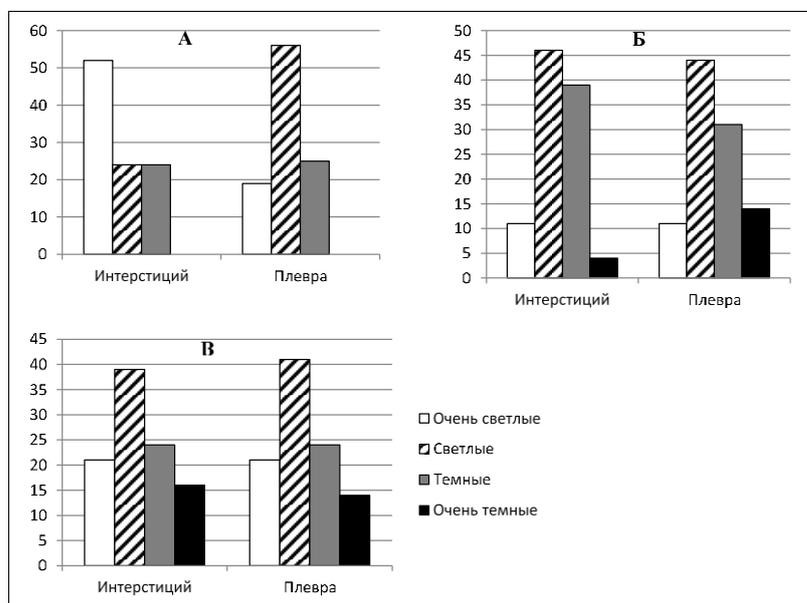


Рис.1. Цитограмма популяции тучных клеток в легких крыс после длительного воздействия АНОГ.

А - контрольная группа, Б – 30-ти суточная АНОГ (группа ОП1), В – 14-ти суточная повторная АНОГ (группа ОП2). По оси ординат – содержание клеток в %.

Здесь были видны группы плотно расположенных ТК. На цитограмме популяции ТК (рис. 1) видно, что у животных после длительного воздействия АНОГ по сравнению с контролем резко сократилось число очень светлых клеток и увеличилось количество светлых и темных, а также выявлялись очень темные клетки, которые отсутствовали в контроле. Причем доля светлых и темных ТК преобладала как в интерстиции легких, так и в плевре у животных обеих групп.

Однако наибольшее увеличение доли светлых и темных клеток отмечено после 30-ти суточного воздействия АНОГ, а более значимое увеличение доли очень темных клеток – после повторного 14-ти суточного воздействия АНОГ.

Гистохимический коэффициент у опытных животных превышал показатели в контроле и в интерстиции легких, и в плевре, наиболее значимо – в плевре (рис. 2 В).

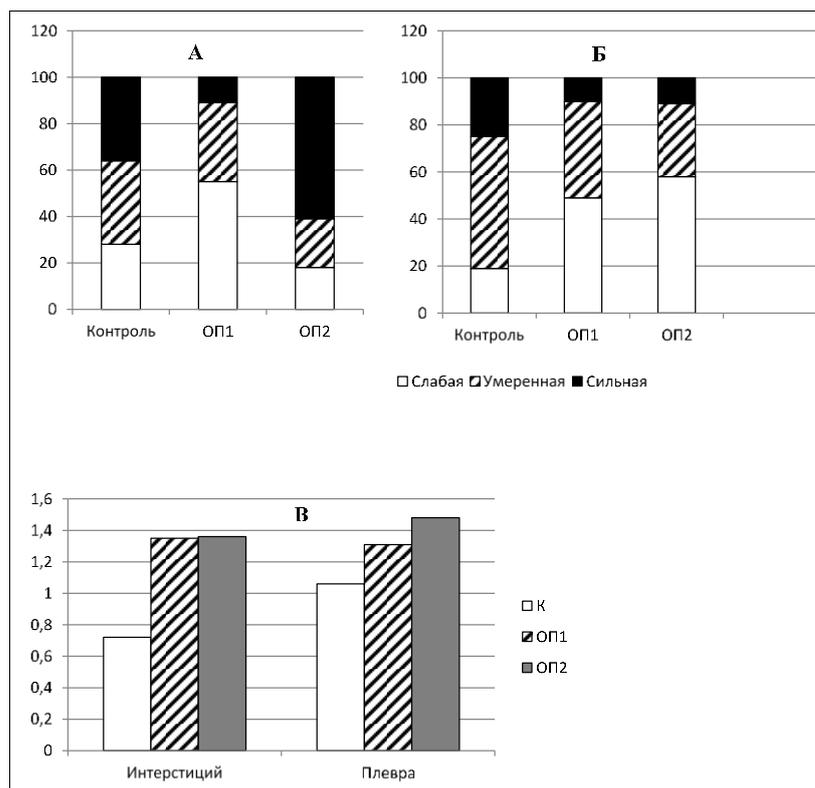


Рис.2. Степень дегрануляции тучных клеток и гистохимический коэффициент в легких крыс после длительного воздействия АНОГ в различных режимах. А – интерстиций легких, Б-плевра, В – гистохимический коэффициент. К – контрольная группа, ОП1 (опытная группа 1) – 30-ти суточная АНОГ, ОП2 (опытная группа 2) – 14-ти суточная повторная АНОГ. А и Б - по оси ординат – содержание клеток в %.

Установлено, что в популяции ТК в интерстиции и в плевре легких у опытных животных изменяется соотношение клеток с разной степенью дегрануляции (рис. 2 А, Б). Так, в интерстиции легких у животных первой опытной группы по сравнению с контрольными увеличилось число ТК со слабой степенью дегрануляции и статистически значимо сократилась доля ТК с сильной степенью дегрануляции. Во второй опытной группе, наоборот, преобладающими являлись ТК с сильной степенью дегрануляции. В плевре отмечено преобладание слабой степени дегрануляции ТК и резкое сокращение ТК с сильной степенью дегрануляции.

**Выводы.** В условиях моделируемой микрогравитации достоверно увеличивается количество выявляемых тучных клеток в легких, что обусловлено необходимостью поддержания гомеостаза тканей и местной регуляции. Наиболее выраженное увеличение численности популяции ТК в тканях легких происходит при 30-ти суточном однократном воздействии. Реакция популяции ТК на повторное 14-ти суточное воздействие имеет аналогичную направленность, но меньшую степень выраженности, что свидетельствует о более быстрой адаптации к условиям АНОГ по сравнению с первым воздействием.

## **Литература**

1. Быков, В.Л. Секреторные механизмы и секреторные продукты тучных клеток // Морфология. – 1999. – Т. 115, № 2. – С. 64-72.
2. Линднер, Д.П., Коган Э.М. Тучные клетки как регуляторы тканевого гомеостаза и их место в ряду биологических регуляторов // Арх. Пат. – 1996. – Т. 38. – С. 3-14.
3. Fitzgerald, S.M., Lee S.A., Hall H.K., Chi D.S., Krishnaswamy G. Human lung fibroblasts express interleukin-6 in response to signaling after mast cell contact // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. - 2004. - V. 30. - № 4. - P. 585-593.
4. Mast Cells in the Tumor Microenvironment. Aponte-López A, Muñoz-Cruz S. Adv Exp Med Biol. – 2020. – №1273. – P.159-173.
5. Линднер, Д.П., Поберий И.А., Розкин М.Я., Ефимов В.С. Морфометрический анализ популяции тучных клеток // Архив патологии. – 1980. – Т. 42. - № 6. – С. 60-64.