

Атякшин Д. А., Быков Э. Г., Горшкова О. М.

СОСТОЯНИЕ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННЫХ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ТОЩЕЙ КИШКИ МОНГОЛЬСКИХ ПЕСЧАНОК ПОСЛЕ ОРБИТАЛЬНОГО ПОЛЕТА НА КОСМИЧЕСКОМ АППАРАТЕ «ФОТОН-М» № 3

Кафедра биологии (заведующий – проф. А. Н. Пашков)

*Воронежской государственной медицинской академии имени Н. Н. Бурденко
и Научно-исследовательский институт экспериментальной биологии и медицины
ВГМА им. Н. Н. Бурденко (директор – к. м. н. Д. Ю. Бугримов), Воронеж*

Тучные клетки (ТК), являясь местными регуляторами тканевого гомеостаза, выполняют важную роль в обеспечении адаптивных реакций организма на внешние факторы среды [2, 3, 8]. Соответственно морфофункциональным и гистохимическим особенностям выделяют ТК соединительной ткани и слизистых оболочек, подробные сведения о которых приведены в обзоре Быкова В. Л. [2], а также ряде других работ [1, 5, 6]. В тощей кишке мукозные ТК локализованы в собственной пластинке слизистой оболочки, тогда как типичные обнаруживаются в подслизистой, мышечной и серозной оболочках. Важное биологическое значение ТК в формировании адаптивных реакций, в том числе под влиянием факторов орбитального полета, делает их весьма перспективными объектами исследований для космической биомедицины. Однако до сих пор такие исследования практически не осуществлялись.

Полетный эксперимент в рамках научно-исследовательского проекта 12-суточного орбитального полета космического аппарата (КА) «Фотон-М» № 3 был проведен на монгольских песчанках *Merionesunguiculatus* (самцах), обладающих рядом преимуществ по сравнению с другими млекопитающими при реализации экспериментов в космической биологии [4]. В первую группу вошли 12 животных, находившихся в 12-суточном орбитальном полете на борту КА «Фотон-М» № 3 с 14 по 26 сентября 2007 года. Вторая группа – группа синхронного эксперимента, была представлена 11 монгольскими песчанками, которые содержались 12 суток в макете полетной аппаратуры «Контур-Л» для моделирования некоторых условий космического полета. Третью группу составили животные, находившиеся в условиях вивария (т.н. «виварийная» группа) (табл. 1). Декапитацию животных, вернувшихся из космического полета, проводили через 21 час после приземления спускаемого аппарата. Для идентификации ТК использовали метакроматическое окрашивание толуидиновым синим [7, 8]. При этом фрагменты тощей кишки длиной не менее 10 мм фиксировали в растворе нейтрального формалина с N-ацетилпиридинхлоридом в 0,1 М фосфатном буфере. Тинкториальные свойства ТК зависят от степени зрелости секреторных гранул и функционального состояния [6]. ТК с различным уровнем этерификации биополимеров в гранулах выявляли окрашиванием в градиенте рН фталатного буфера, значения которого составляли 3,0, 4,4 и 5,6. Согласно методике анализа популяционных характеристик ТК [3], в каждом поле зрения подсчитывали число ТК, определяли их степень

зрелости, топографию, а также состояние цитоплазмы и особенности выведения специфических гранул. По морфологическим критериям идентифицировали недегранулированные (гранулированные и компактные) и дегранулированные (лизированные и в состоянии экзоцитоза) ТК, а также состояние элиминации ядра и состояние клазматоза.

При выявлении ТК толуидиновым синим в буферном растворе с рН = 3,0 субпопуляция типичных тканевых базофилов в соединительных тканях стенки тощей кишки монгольских песчанок «виварийной» группы составляла гораздо меньшую часть от общего числа тучных клеток в стенке органа и была представлена преимущественно ТК подслизистой оболочки (табл. 1).

Таблица 1

СОДЕРЖАНИЕ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В СТЕНКЕ ТОЩЕЙ КИШКИ
МОНГОЛЬСКИХ ПЕСЧАНОК.

рН	Оболочки тощей кишки	Виварийный контроль	Синхронный эксперимент	Космический полет
3,0	Собственная пластинка слизистой оболочки	4,59 ± 0,41	4,55 ± 0,38	2,61 ± 0,24*,**
	Подслизистая основа	0,61 ± 0,05	0,66 ± 0,04	0,06 ± 0,03*,**
	Мышечная оболочка	0,09 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,01 ± 0,011*,**
	Серозная оболочка	0,17 ± 0,02	0,08 ± 0,01	0,01 ± 0,002*,**
	Всего	5,46 ± 0,34	5,39 ± 0,32	2,70 ± 0,15*,**
4,4	Собственная пластинка слизистой оболочки	4,98 ± 0,63	3,97 ± 0,44	3,05 ± 0,44
	Подслизистая основа	0,23 ± 0,021	0,32 ± 0,02*	0,19 ± 0,02*,**
	Мышечная оболочка	0,13 ± 0,02	0,18 ± 0,02*	0,01 ± 0,001*,**
	Серозная оболочка	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,004	0,03 ± 0,003*,**
	Всего	5,39 ± 0,25	4,52 ± 0,31*	3,27 ± 0,23*,**
5,6	Собственная пластинка слизистой оболочки	4,34 ± 0,36	4,67 ± 0,24	2,82 ± 0,18*,**
	Подслизистая основа	0,37 ± 0,02	0,26 ± 0,01*	0,13 ± 0,01*,**
	Мышечная оболочка	0,04 ± 0,003	0,11 ± 0,01*	0,02 ± 0,003*,**
	Серозная оболочка	0,03 ± 0,004	0,02 ± 0,002	0,01 ± 0,002*,**
	Всего	4,79 ± 0,35	5,06 ± 0,35	2,99 ± 0,21*,**

Примечание. Методика – окрашивание толуидиновым синим в градиенте рН (на п/з).

* р < 0,05 по сравнению с показателями группы «виварийного» контроля.

** р < 0,05 по сравнению с показателями группы синхронного эксперимента.

В подслизистой основе соотношение юных, зрелых и старых ТК было примерно равным (табл. 2). При этом численность гранулированных и компактных форм ТК практически не отличалась. Основной формой высвобождения продуктов биосинтеза ТК являлся лизис гранул. В соединительной ткани мышечной оболочки также не обнаруживалось преобладания ТК определенной степени зрелости, тогда как в серозной оболочке выявлялись преимущественно старые формы. В условиях синхронного эксперимента представительство ТК в подслизистой основе не менялось (см. табл. 1). В то же время происходило изменение структуры популяции ТК: содержание зрелых форм возрастало на фоне сокращения численности юных и старых. Кроме того, уменьшалось количество недегранулированных форм (табл. 3). Напротив, в мышечной оболочке происходило достоверное возрастание численности ТК, при этом доминирующими формами были зрелые. Число ТК в серозной оболочке достоверно уменьшалось, прежде всего, за счет юных и старых форм. Космический полет приводил к выраженному сокращению численности ТК во всех изученных участках соединительной ткани, а в мышечной и серозной оболочках они практически исчезали (см. табл. 1). Преобладающими формами ТК становились юные клетки, возрастала активность экзоцитоза. Кроме того, с большей частотой обнаруживались участки цитоплазмы с гранулами – цитопласты.

При исследовании типичных ТК со средней степенью сульфатирования цитоплазматических биополимеров в стенке тощей кишки (окрашивание толуидиновым синим в буферном растворе с $\text{pH} = 4,4$) животных «виварийной» группы было обнаружено их наибольшее количество в подслизистой основе: более половины составляли юные и зрелые формы (см. табл. 1, 2). Среди недегранулированных ТК преобладали формы с компактной цитоплазмой, плотно заполненной метакроматическими гранулами. Основным механизмом высвобождения продуктов биосинтеза ТК являлся экзоцитоз (см. табл. 3). В соединительной ткани мышечной оболочки преобладали зрелые ТК, количество юных форм обладало несколько меньшей численностью (см. табл. 2). Недегранулированные ТК преобладали над остальными морфофункциональными состояниями. Среди ТК, выявленных в субсерозном слое, преобладающими были юные формы, а наименьшее представительство было характерно для старых (см. табл. 2). После синхронного эксперимента общее количество ТК в стенке тощей кишки достоверно снизилось по сравнению с показателями группы «виварийного» контроля за счет сокращения числа мукозных ТК собственной пластинки слизистой оболочки (см. табл. 1). Содержание типичных ТК, наоборот, достоверно возрастало, в том числе в подслизистой основе и мышечной оболочке (см. табл. 1). В подслизистой основе среди ТК доминировали старые формы, количество юных существенно снижалось. Содержание недегранулированных форм увеличивалось за счет возрастания гранулосодержащих ТК, без признаков выведения продуктов биосинтеза. Активность экзоцитоза достоверно снижалась. Особенность представительства ТК в мышечной оболочке заключалась в выраженном сокращении числа старых клеточных форм на фоне существенного возрастания количества юных и зрелых ТК. Количество ТК в субсерозном слое серозной оболочки не менялось, число зрелых форм увеличивалось.

Таблица 2

**ВОЗРАСТНАЯ СТРУКТУРА СУБПОПУЛЯЦИИ ТИПИЧНЫХ ТУЧНЫХ
КЛЕТОК В ТОЩЕЙ КИШКЕ МОНГОЛЬСКИХ ПЕСЧАНОК
(НА ПОЛЕ ЗРЕНИЯ)**

рН	Оболочки тощей кишки	Формы тучных клеток	Биологический контроль	Синхронный эксперимент	Космический полет
3,0	Подслизистая основа	Юные	0,183 ± 0,023	0,186 ± 0,015	0,039 ± 0,003*,**
		Зрелые	0,209 ± 0,018	0,262 ± 0,018*	0,007 ± 0,001*,**
		Старые	0,218 ± 0,017	0,208 ± 0,016	0,016 ± 0,002*,**
	Мышечная	Юные	0,029 ± 0,004	0,020 ± 0,003	0,014 ± 0,001*,**
		Зрелые	0,027 ± 0,002	0,077 ± 0,005*	—
		Старые	0,032 ± 0,004	0,009 ± 0,001*	—
	Серозная	Юные	0,042 ± 0,003	0,011 ± 0,001*	единичные
		Зрелые	0,038 ± 0,004	0,037 ± 0,005	—
		Старые	0,088 ± 0,005	0,033 ± 0,004*	—
4,4	Подслизистая основа	Юные	0,080 ± 0,004	0,039 ± 0,004*	0,054 ± 0,006*,**
		Зрелые	0,052 ± 0,005	0,126 ± 0,014*	0,057 ± 0,004**
		Старые	0,097 ± 0,006	0,156 ± 0,012*	0,077 ± 0,005*,**
	Мышечная	Юные	0,047 ± 0,002	0,071 ± 0,002*	0,007 ± 0,001*,**
		Зрелые	0,051 ± 0,004	0,094 ± 0,006*	—
		Старые	0,028 ± 0,002	0,017 ± 0,002*	—
	Серозная	Юные	0,023 ± 0,002	0,012 ± 0,001*	0,020 ± 0,002**
		Зрелые	0,016 ± 0,002	0,026 ± 0,003*	0,007 ± 0,001*,**
		Старые	0,013 ± 0,002	0,007 ± 0,001*	—
5,6	Подслизистая основа	Юные	0,167 ± 0,014	0,071 ± 0,004*	0,037 ± 0,002*,**
		Зрелые	0,052 ± 0,003	0,041 ± 0,004	0,043 ± 0,003
		Старые	0,154 ± 0,011	0,148 ± 0,012	0,050 ± 0,002*,**
	Мышечная	Юные	0,003 ± 0,000	0,054 ± 0,004	0,024 ± 0,002
		Зрелые	0,030 ± 0,002	0,042 ± 0,003	—
		Старые	0,010 ± 0,001	0,012 ± 0,001	—
	Серозная	Юные	0,009 ± 0,003	0,011 ± 0,002	—
		Зрелые	0,008 ± 0,000	0,012 ± 0,004	—
		Старые	0,008 ± 0,001	—	—

Примечание. Методика выявления – окрашивание толуидиновым синим в градиенте рН.

* $p < 0,05$ по сравнению с показателями группы «виварийного» контроля.

** $p < 0,05$ по сравнению с показателями группы синхронного эксперимента.

Обращало на себя внимание существенное сокращение численности типичных ТК после космического полета, как в сравнении с показателями животных группы «виварийного» контроля, так и в условиях синхронного эксперимента.

При этом происходило практически полное исчезновение ТК из мышечной оболочки и субсерозного слоя серозной оболочки. ТК, локализованные в этих зонах тощей кишки, практически все представляли собой юные формы. Обнаруживалось высокое относительное содержание старых ТК. Представительство недегранулированных ТК существенно уменьшалось, прежде всего, в связи с практически полным исчезновением ТК с компактной цитоплазмой. Очевидно, этот факт объясняет обнаруженное возрастание либерализации биополимеров ТК как с помощью экзоцитоза, так и лизиса секреторных гранул. Окрашивание толуидиновым синим в буферном растворе с рН = 5,6 показало, что большинство ТК с высокой степенью этерификации полианионных биополимеров локализовалось в подслизистой основе, где они в равной степени были представлены юными и старыми ТК. Зрелые формы тучных клеток были менее многочисленны. Недегранулированных форм было значительно больше дегранулированных, преимущественно из-за высокого содержания ТК с компактной цитоплазмой. Процессы экзоцитоза гранул с высокосульфатированными биополимерами преобладали над их лизисом в механизмах либерализации продуктов биосинтеза ТК. Явления клазматоза, элиминации ядер с формированием безъядерных цитопластов практически отсутствовали. ТК в соединительной ткани мышечной оболочки преимущественно были зрелыми формами, вторыми по численности являлись старые тучные клетки.

Таблица 3

**СООТНОШЕНИЕ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННЫХ ТУЧНЫХ КЛЕТОК
РАЗЛИЧНОГО МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА
В ПОДСЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ТОЩЕЙ КИШКИ
МОНГОЛЬСКИХ ПЕСЧАНОК (В %)**

рН	Морфофункциональный статус тканевых базофилов	Виварийный контроль	Синхронный эксперимент	Космический полет
3,0	Гранулированные	20,8 ± 1,4	9,4 ± 0,9*	3,4 ± 0,2*, **
	Компактные	22,9 ± 1,6	22,9 ± 1,4	34,1 ± 2,8*, **
	С признаками экзоцитоза	6,2 ± 0,5	12,5 ± 1,1*	24,7 ± 2,1*, **
	Лизированные	50,1 ± 3,2	52,1 ± 3,4	32,4 ± 2,9*, **
	С признаками клазматоза	—	3,1 ± 0,2	—
	Цитопласты	—	—	5,4 ± 0,5
4,4	Гранулированные	8,3 ± 0,4	21,7 ± 1,8*	30,8 ± 2,1*, **
	Компактные	29,2 ± 2,1	26,1 ± 2,2	3,8 ± 0,2*, **
	С признаками экзоцитоза	33,3 ± 2,3	13,1 ± 1,4*	23,1 ± 1,9*, **
	Лизированные	29,2 ± 2,5	34,8 ± 3,0	38,5 ± 3,4*
	С признаками клазматоза	—	4,3 ± 0,4	3,8 ± 0,3

рН	Морфофункциональный статус тканевых базофилов	Виварийный контроль	Синхронный эксперимент	Космический полет
5,6	Гранулированные	9,4 ± 0,6	15,9 ± 1,2*	23,9 ± 2,4*,**
	Компактные	58,2 ± 4,2	59,1 ± 4,1	—
	С признаками экзоцитоза	19,8 ± 1,3	2,1 ± 0,2*	61,8 ± 5,4*,**
	Лизированные	12,6 ± 0,7	19,0 ± 1,3*	14,3 ± 1,1**
	С признаками клазматоза	—	3,1 ± 0,2	—

Примечание. Методика выявления – окрашивание толуидиновым синим в градиенте рН.

* $p < 0,05$ по сравнению с показателями группы «виварийного» контроля.

** $p < 0,05$ по сравнению с показателями группы синхронного эксперимента.

Условия синхронного эксперимента приводили в целом к сокращению численности типичных ТК в стенке тощей кишки, прежде всего, за счет уменьшения в подслизистой основе. Количество недегранулированных ТК практически не менялось, тогда как формы высвобождения продуктов биосинтеза диаметрально менялись с формированием преобладания лизиса гранул в механизмах дегрануляции. Значительно снижалось содержание юных форм ТК. В мышечной оболочке общее количество ТК возрастало, при этом существенно увеличивалось представительство юных форм и, в меньшей степени, зрелых. Выявляемые ТК в субсерозной соединительной ткани преимущественно были юными либо зрелыми формами. Космический полет приводил к дальнейшему прогрессированию снижения числа ТК в изучаемых структурах тощей кишки в сравнении с их количеством, характерным для групп синхронного эксперимента и «виварийного» контроля (см. табл. 1). При этом соотношение юных, зрелых и старых ТК в подслизистой основе выравнивалось на фоне общего снижения. Исчезали ТК с компактной цитоплазмой вместе с возрастанием интенсивности экзоцитоза секреторных гранул. Явления лизиса уменьшались. Встречающиеся ТК в мышечной и серозной оболочках были редки и представляли собой преимущественно юные формы.

Резюмируя полученные данные, следует отметить, что, по аналогии с популяцией мукозных ТК, локализованных в собственной пластинке слизистой оболочки, после космического полета происходило выраженное сокращение численности типичных ТК, вплоть до практически полного исчезновения из состава мышечной и серозной оболочек. Кроме того, факторы космического полета приводили к интенсификации процесса экзоцитоза в механизмах либерализации продуктов биосинтеза, прежде всего, гепарина. Возможное объяснение полученных данных, видимо, лежит в существенном расходе функционального резерва ТК тощей кишки в условиях адаптации к невесомости. Об этом свидетельствует и возрастание юных форм в популяции. Кроме того, учитывая редукцию ретикулярных волокон, показанную нами в предыдущих исследованиях, можно предположить и определенное нарушение процессов миграции ТК в структуры тощей кишки из-за изменения тропности их движения. Вероятно, что

уменьшение популяции ТК отражается на изменении сократительной активности желудочно-кишечного тракта, отмеченного в ряде исследований, поскольку ТК способны оказывать определенное регуляторное влияние на деятельность гладкой мускулатуры.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Атякшин Д. А., Быков Э. Г.* Популяционные характеристики слизистых тканевых базофилов тощей кишки монгольских песчанок после 12-суточного орбитального полета на КА «Фотон-М» № 3 // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2013. Т. 47. № 6. С. 17–24.
2. *Быков В. Л.* Развитие и гетерогенность тучных клеток // *Морфология*. 2000. № 3. С. 86–92.
3. *Быков Э. Г.* Популяционные характеристики тканевых базофилов // *Сборник трудов VIII Всероссийской конференции по патологии клетки*. Москва, 2010. С. 45–47.
4. *Капланский А. С. и др.* Гистологическое исследование внутренних органов монгольской песчанки *Merionesunguiculatus* применительно к космическим экспериментам // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2008. Т. 42. № 1. С. 28–31.
5. *Кондашевская М. В.* Тучные клетки и гепарин — ключевые звенья в адаптивных и патологических процессах // *Вестник РАМН*. 2010. № 6. С. 49–54.
6. *Омельяненко Н. П., Слущкий Л. И.* Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия) / Под ред. акад. РАН и РАМН С. П. Миронова. Москва: Изд-во «Известия», 2009.
7. *Belanger L. F., Hartnett A.* Persistent toluidine blue metachromasia // *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society*. 1960. № 1. P. 75.
8. *Sridharan G., Shankar A. A.* Toluidine blue: A review of its chemistry and clinical utility // *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. 2012. Vol.16. № 2. P. 251–255.

Блинова С. А., Хамидова Ф. М.

ТКАНЕВЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГОРТАНИ ПРИ ОСТРОМ ЛАРИНГИТЕ И РЕАКТИВНЫЕ СВОЙСТВА ЕЕ ЭНДОКРИНОЦИТОВ

Институт стволовых клеток человека (генеральный директор — А. А. Исаев), Москва

Изучение тканевых изменений в гортани при воспалительной патологии привлекает внимание многих исследователей [1, 2]. В постнатальном онтогенезе у кроликов существует взаимосвязь между развитием гортани и формированием ее местного эндокринного аппарата (АПУД-системы). По мере увеличения возраста животных высота эпителия слизистой оболочки гортани в среднем