

*Шаймарданова Г. Ф., Тяпкина О. В.,
Васильева А. Р., Гайсин И. А., Красовский Г.А.*

ВЛИЯНИЕ ГИПОГРАВИТАЦИИ НА МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ МИЕЛИНОВЫХ ВОЛОКОН СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА МЫШЕЙ

*Лаборатория молекулярных основ патогенеза (заведующий – проф. В. М. Чернов)
Казанского института биохимии и биофизики КазНЦ РАН,
e-mail: gulnara_kzn@rambler.ru*

Космический полет – одна из самых стрессовых ситуаций, с которыми сталкивается человек. В космосе человек подвержен радиации, гипогравитации, гиподинамии, испытывает изоляцию, оксигенацию, что нарушает систему гомеостаза и оказывает неблагоприятное воздействие на большинство функций [4, 7, 9, 10]. В результате воздействия невесомости формируется гипогравитационный двигательный синдром, который включает в себя нарушения сенсорных систем, моторного контроля, функции мышц, гемодинамики [2, 5]. Несмотря на комплекс профилактических и реабилитационных мер, после длительного полета у космонавтов наблюдаются многочисленные морфологические и функциональные изменения в опорно-двигательном аппарате, центральной и периферической нервной системах, сохраняющиеся продолжительное время [6, 12, 13, 15].

Центральная нервная система играет ключевую роль в запуске и развитии гипогравитационного двигательного синдрома. Однако конкретные механизмы этого влияния и источники адаптивных реакций со стороны периферической нервной системы остаются неясными. В связи с невозможностью забора образцов нервной ткани у человека, основной массив научных данных получен от животных, подвергавшихся действию невесомости в космосе или при моделировании гипогравитации на Земле. Установлено, что при длительном воздействии гипогравитации (или имитирующих ее условий) у мышей подавляется экспрессия широкого спектра генов в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга [11], однако набор этих генов различается для «полетных» и «модельных» групп. Так, при моделировании гипогравитации в земных условиях обнаружено подавление экспрессии генов, кодирующих белки миелиновых оболочек, что сопровождается нарушением миелинизации аксонов. Однако в полетной группе животных экспрессия этих генов не изменилась. Полученные данные дают основания предполагать, что патогенез двигательных нарушений в невесомости и при ее моделировании на Земле может существенно различаться, что подчеркивает актуальность экспериментов в космических условиях.

Цель данной работы: изучить структуру волокон седалищного нерва и белого вещества поясничного отдела спинного мозга мышей после 30-суточного пребывания в условиях космического полета (проект БИОН-М1).

Методы исследования. Эксперименты проведены на мышах-самцах линии c57blac/6 массой 27,1-27,4г. Все процедуры с животными выполнены в соответствии с международными этическими нормами [1]. Опытную группу составили

животные, подвергнутые 30-суточному космическому полету в рамках программы БИОН-М1 ($n = 5$), контрольную группу – животные, которые в космос не летали ($n = 5$).

Седалищные нервы фиксировали в 2,5 %-ном глутаровом альдегиде и 1 %-ном растворе OsO_4 на фосфатном буфере с добавлением сахарозы и заливали в Epon 812 (Fluka). Ультратонкие поперечные срезы изготавливали на ультрамикротоме LKB-III, контрастировали насыщенным водным раствором уранил-ацетата и цитратом свинца, просматривали с помощью трансмиссионного микроскопа JEM-1200. Измеряли толщину миелиновых оболочек; диаметр нервных волокон. Поясничный отдел спинного мозга фиксировали в 4 %-ном растворе параформальдегида, затем помещали в 30 %-ный раствор сахарозы.

На криостате HM560 Cryo-Star (Carl Zeiss, Германия) изготавливали серийные поперечные срезы толщиной 20 мкм, которые окрашивали метиленовым синим. Просмотр препаратов и оцифровку изображений проводили на микроскопе Olympus BX51WI с помощью камеры AxioCamMRm (Carl Zeiss, Германия) и программы AxioVisionRel. Измерение общей площади и площади, занимаемой белым и серым веществами, проводили с помощью программы ImageJ. Результаты морфометрии обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента, ANOVA, программа OriginPro.

Результаты. При исследовании полутонких срезов установлено, что среднее значение площади поперечного сечения в поясничном отделе спинного мозга у мышей контрольной группы составило $2,65 \pm 0,07 \text{ мм}^2$, в том числе серого вещества – $1,44 \pm 0,05 \text{ мм}^2$, белого вещества – $1,22 \pm 0,01 \text{ мм}^2$. У животных в группе после 30-суточного космического полета общая площадь поперечных срезов поясничного отдела составила $2,64 \pm 0,03 \text{ мм}^2$, в том числе серого вещества – $1,39 \pm 0,01 \text{ мм}^2$ и белого вещества – $1,25 \pm 0,04 \text{ мм}^2$. Таким образом, достоверных различий площади поперечного сечения в поясничном отделе спинного мозга между опытной и контрольной группами не выявлено.

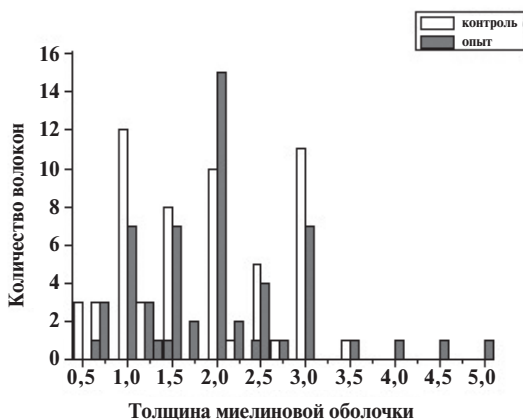


Рис. 1. Количественная характеристика нервных волокон. По оси абсцисс – толщина миелиновых оболочек, по оси ординат – количество волокон

У животных, перенесших космический полет, наблюдается больший разброс толщины миелиновых оболочек: максимальное значение в опытной группе составило 5 условных единиц, тогда как в контрольной – 3 ед. (рис. 1). С другой стороны, в опыте отмечено уменьшение количества толстых волокон: максимальный диаметр волокон в опытной группе 22 ед, в контрольной – 30 ед.

Для животных обеих групп является характерной пропорциональность между толщиной волокна и толщиной миелиновой оболочки, определяемая как угол наклона

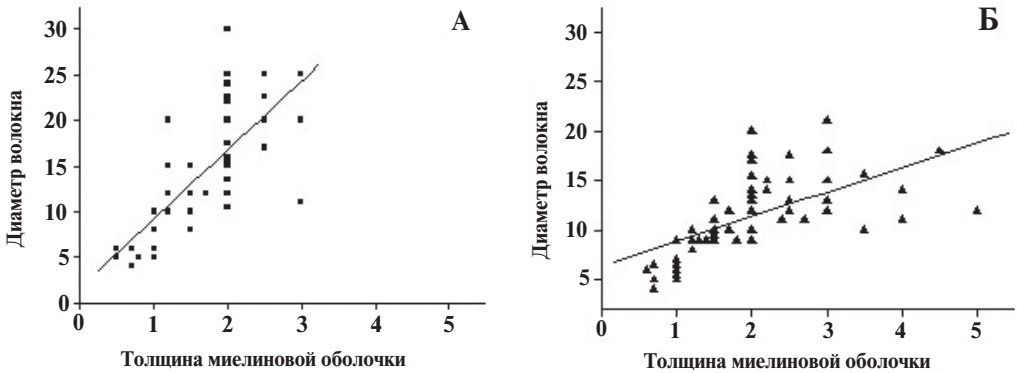


Рис. 2. Соотношение диаметра нервного волокна и толщины его миелиновой оболочки:

А – контроль, Б – опыт. По оси абсцисс – толщина миелиновых оболочек, по оси ординат – диаметр миелиновых нервных волокон

линейной регрессии (рис. 2А, Б). Однако в «полетной группе» обнаруживаются отдельные волокна с очень толстой оболочкой, у которых указанная пропорциональность существенно нарушена (рис. 2Б). При построении регрессии эти волокна не учитывали. Но даже без учета таких волокон среднее отношение диаметра волокна к толщине миелиновой оболочки в опытной группе оказалось существенно меньше, чем в контрольной (табл. 1., рис. 3).

Полученный результат свидетельствует о том, что в полетной группе (по сравнению с контрольной) произошло относительное увеличение толщины миелиновой оболочки у всех нервных волокон. Визуальный анализ показал, что плотность миелиновой оболочки волокон в опыте не отличается от нормальной, а рост толщины предположительно обусловлен увеличением числа слоев миелина.

Таблица 1

СОТНОШЕНИЕ ДИАМЕТРА ВОЛОКНА К ТОЛЩИНЕ МИЕЛИНОВОЙ ОБОЛОЧКИ В ОПЫТНОЙ И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППАХ МЫШЕЙ

Опыт	Контроль
4,14 ± 0,47	7,47 ± 0,30
4,28 ± 0,46	7,51 ± 0,80
3,73 ± 0,47	6,12 ± 0,46
4,89 ± 0,44	8,18 ± 0,63
5,25 ± 0,53	7,01 ± 0,97

Ранее сообщалось об увеличении толщины миелиновой оболочки нервных волокон различных отделов головного мозга в процессе нормального старения у мышей [14], крыс [16, 17] и приматов [11]. Авторы цитируемых работ высказывают мнение, что утолщение миелиновых оболочек является приспособительной реакцией, призванной компенсировать уменьшение числа нервных волокон путем увеличения проводимости оставшихся. На адаптивный характер утолщения

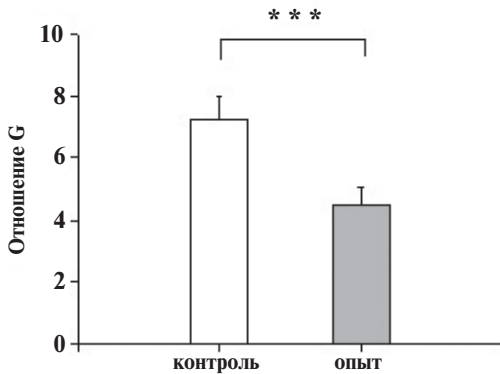


Рис. 3. Среднее отношение (G) диаметра волокна к толщине миелиновой оболочки в опытной и контрольной группах мышей (***) — $p < 0,001$)

миелина указывают и результаты, полученные при изучении влияния повышенной двигательной активности на микроструктуру миелина и миелин-образующих клеток двигательной коры головного мозга [8]. Таким образом, наблюдаемые изменения ультраструктуры нервных волокон в «послеполетной группе» животных могут носить адаптационный характер.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-04-01404 А.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреев-Андриевский А. А., Шенкман Б. С., Попова А. С., Долгов О. Н., Анохин К. В., Солдатов П. Э., Виноградова О. Л., Ильин Е. А., Сычев В. Н. Экспериментальные исследования на мышах по программе полета биоспутника «БИОН-М1» // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2014. Т. 48, № 1. С. 14–27.
2. Григорьев А. И. Экология человека. М.: ГЭОТАР-Медицина, 2016.
3. Исламов Р. Р., Гусев О. А., Тапале А., Терада М., Тяпкина О. В., Петров К. А., Ризванов А. А., Козловская И. Б., Никольский Е. Е., Григорьев А. И. Полногеномное исследование экспрессии генов поясничного отдела спинного мозга мышей после 30-суточного космического полета на биоспутнике БИОН-М1 // Доклады академии наук. 2014. Т. 458, № 6. С. 711–713.
4. Ade C. J., Broxterman R. M., Moore A. D., Barstow T. J. Decreases in maximal oxygen uptake following long-duration spaceflight: role of convective and diffusive O₂ transport mechanisms // J. Appl. Physiol. 2017. Vol. 122(4). P. 968–975.
5. Chodzynski K. J., Eker O. F., Vanrossomme A. E., de Sousa D. R., Coussement G. et al. Does the gravity orientation of saccular aneurysms influence hemodynamics? An experimental study with and without flow diverter stent // J. Biomech. 2016. Vol. 49(16). P. 3808–3814.
6. Fix D. K., Hardee J. P., Bateman T. A., Carson J. A. Effect of irradiation on Akt signaling in atrophying skeletal muscle // Appl. Physiol. 2016. Vol. 121 (4). P. 917–924.
7. Gao Y., Xu D., Zhao L., Sun Y. The DNA damage response of *C. elegans* affected by gravity sensing and radiosensitivity during the Shenzhou-8 spaceflight // Mutat. Res. 2017. Vol. 795. P. 15–26.
8. Gibson E. M., Purger D., Mount C. W., Goldstein A. K., Lin G. L. et al. Neuronal activity promotes oligodendrogenesis and adaptive myelination in the mammalian brain // Science. 2014. Vol. 344(6183). P. 1252304–11.
9. Kononikhin A. S., Starodubtseva N. L., Pastushkova L. K., Kashirina D. N., Fedorchenko K. Y., Brhozovsky A. G., Popov I. A., Larina I. M., Nikolaev E. N. Spaceflight in-

- duced changes in the human proteome // *Expert. Rev. Proteomics*. 2017. Vol. 14(1). P. 15–29.
10. Otsuka K., Cornelissen G., Furukawa S., Kubo Y., Hayashi M., Shibata K., Mizuno K., Aiba T., Ohshima H., Mukai C. Long-term exposure to space's microgravity alters the time structure of heart rate variability of astronauts // *Heliyon*. 2016. Vol. 2(12). P. e00211.
 11. Peters A. The effects of normal aging on myelinated nerve fibers in monkey central nervous system // *Front. Neuroanat*. 2009. Vol. 3(11). P. 459–466.
 12. Petersen N., Lambrecht G., Scott J., Hirsch N., Stokes M., Mester J. Postflight reconditioning for European Astronauts – A case report of recovery after six months in space // *Musculoskelet. Sci. Pract.* 2017. Vol. 27. P. 23–31.
 13. Shenkman B. S. From slow to fast: hypogravity-induced remodeling of muscle fiber myosin phenotype // *Acta. Naturae*. 2016. Vol. 8(4). P. 47–59.
 14. Shepherd M. N., Pomicter A. D., Velazco C. S., Henderson S. C., Dupree J. L. Paranodal reorganization results in the depletion of transverse bands in the aged central nervous system // *Neurobiol. Aging*. 2012. Vol. 33(1). P. 203.e13–203.e24.
 15. Sultemeier D. R., Choy K. R., Schweizer F. E., Hoffman L. F. Spaceflight-induced synaptic modifications within hair cells of the mammalian utricle // *J. Neurophysiol.* 2017. Vol. 117(6). P. 2163–2178.
 16. Sugiyama I., Tanaka K., Akita M., Yoshida K., Kawase T., Asou H. Ultrastructural analysis of the paranodal junction of myelinated fibers in 31-month-old-rats // *J. Neurosci. Res.* 2002. Vol. 70(3). P. 309–317.
 17. Xie F., Liang P., Fu H., Zhang J. C., Chen J. Effects of normal aging on myelin sheath ultrastructures in the somatic sensorimotor system of rats // *Mol. Med. Rep.* 2014. Vol. 10(1). P. 459–466.

Шаймарданова Г. Ф.

СТИМУЛИРОВАНИЕ НЕЙРОРЕГЕНЕРАЦИИ СПИННОГО МОЗГА КРЫСЫ ТРАНСГЕНАМИ VEGF, FGF2, GDNF ПРИ КОНТУЗИОННОЙ ТРАВМЕ

*Лаборатория молекулярных основ патогенеза (заведующий – проф. В. М. Чернов)
Казанского института биохимии и биофизики КазНИЦ РАН,
e-mail: gulnara_kzn@rambler.ru*

Генно-клеточная терапия экспериментальной контузионной травмы спинного мозга (КТСМ) дает неоднозначные результаты. Подходы, направленные на суперэкспрессию определенных генов факторов роста, демонстрируют положительное влияние на нейрорегенерацию, не достигая, однако, полного восстановления функций. Причины ограниченной эффективности генной терапии до конца не выяснены.

Среди экспериментальных подходов стимулирования нейрорегенерации одно из ведущих мест занимает трансплантация соматических и стволовых клеток. Положительная роль трансплантируемых клеток лишь отчасти обусловлена воз-