

УДК: 611.345+597.593]613.693
 © Атякшин Д.А., Быков Э.Г., 2011

СЛИЗИСТАЯ ОБОЛОЧКА ТОЩЕЙ КИШКИ МОНГОЛЬСКИХ ПЕСЧАНОК ПОСЛЕ ПОЛЕТА НА КОСМИЧЕСКОМ АППАРАТЕ «ФОТОН-М» №3

Атякшин Д.А., Быков Э.Г.

Воронежская государственная медицинская академия имени Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

Атякшин Д.А., Быков Э.Г. Слизистая оболочка среднего відділу тонкої кишки монгольських піщанок після польоту на космічному апараті «Фотон-М» №3 // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 24-27.

Робота вивчає стан слизової оболонки середнього відділу тонкої кишки 35 монгольських піщанок трьох експериментальних груп: біологічного контролю, синхронного експерименту та тих, що повернулися з 12-денного орбітального польоту на борту КА «Фотон-М» №3. У тварин групи синхронного експерименту у слизовій оболонці середнього відділу тонкої кишки відбувалося достовірне зниження висоти призматичного епітелію у верхньому та нижньому відділах ворсин, формування мікроциркуляторних порушень та зменшення чисельності бокаловидних клітин. Умови 12-денного космічного польоту призводили до достовірного скорочення ворсин разом зі зниженням висоти епітеліального пласту, збільшення вмісту бокаловидних екзокриноцитів з активізацією секреторної діяльності. Трофічні порушення у слизовій оболонці та явища лімфоцитарної інфільтрації набували більш маніфестованого характеру в порівнянні з виявленими змінами у групі тварин з синхронного експерименту. Не спостерігалось змін проліферативної активності епітелію крипт у порівнянні з показниками тварин з синхронного експерименту та біологічного контролю.

Ключові слова: монгольські піщанки, космічний політ, середній відділ тонкої кишки, слизова оболочка.

Атякшин Д.А., Быков Э.Г. Слизистая оболочка тощей кишки монгольских песчанок после полета на космическом аппарате «Фотон-М» №3 // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 24-27.

В работе изучено состояние слизистой оболочки тощей кишки 35 монгольских песчанок трех экспериментальных групп: биологического контроля, синхронного эксперимента и вернувшихся из 12-суточного орбитального полета на борту КА «Фотон-М» №3. У животных группы синхронного эксперимента в слизистой оболочке тощей кишки происходило достоверное снижение высоты призматического эпителия в верхнем и нижнем отделах ворсин, формирование микроциркуляторных нарушений и уменьшение численности бокаловидных клеток. Условия 12-суточного космического полета приводили к достоверному укорочению ворсин вместе со снижением высоты эпителиального пласта, возрастанию содержания бокаловидных экзокриноцитов с активизацией секреторной деятельности. Трофические нарушения в слизистой оболочке и явления лимфоцитарной инфильтрации принимали более манифестированный характер по сравнению с выявленными изменениями в группе животных из синхронного эксперимента. Изменений пролиферативной активности эпителия крипт в сравнении с показателями животных из синхронного эксперимента и биологического контроля не наблюдалось.

Ключевые слова: монгольские песчанки, космический полет, тощая кишка, слизистая оболочка

Atyakshin D.A., Bykov E.G. Mongolian gerbil jejunum mucosa after an orbital flight on spacecraft "Foton-M" №3 // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 24-27.

The article discusses the condition of jejunum mucosa of 35 Mongolian gerbils divided into three experimental groups: biological control group, synchronic experiment group and 12-day-orbital flight group. The animals of synchronic experiment group demonstrated an evidence proved decrease of columnar epithelium level in upper and lower villi, formation of microcirculatory disturbances and reduction of glass-shaped calciform cells' number. 12-day- orbital flight resulted in evidence proved contraction of villi along with the decrease of epithelium layer lever, an increase of glass-shaped exocrinocytes with secretion activation. Trophic disturbances in jejunum mucosa and cases of lymphocyte infiltration were more obviously manifested in comparison to the changed seen in synchronic experiment group. There haven't been found any changes in proliferous activity of crypt epithelium in comparison to biological control group and synchronic experiment group.

Key words: mongolian gerbils, orbital flight, jejunum, mucosa

Изучение гистофизиологического состояния пищеварительной трубки неоднократно проводилось в полетных экспериментах на млекопитающих [2; 8; 9; 12; 13]. Учитывая современные представления о защитной функции гастроинтестинального барьера [6], не теряет своей актуальности продолжение его изучения в условиях космического полета. Известно, что от характера сочетанной продукции мукоцитами пищеварительного тракта муцинов и трефоиловых пептидов трех типов, различные варианты которого получили формулировку «фактора солокализации», зависит

не только эффект «смазывания» поверхности слизистой оболочки и ее защита благодаря формированию вязко-эластического протективного слоя, но и регуляция процесса регенерации [6, 18]. Кроме того, определение пролиферативной активности эпителия крипт у полетных животных, позволяющее оценить влияние невесомости на клеточное деление и дальнейшую дифференцировку кишечного эпителия в морфофункциональном комплексе «крипта-ворсинка», ранее не сопровождалось исследованием динамики митотического цикла [16, 17]. Это послужило обоснованием

вновь обратиться к вопросу о влиянии условий орбитального полета на морфофункциональное состояние слизистой оболочки тощей кишки. Следует отметить, что исследование тонкого кишечника у монгольских песчанок, имеющих в космической биологии ряд преимуществ для проведения экспериментов по сравнению с другими видами биологических объектов [3], в полетных экспериментах ранее не проводилось.

Методика. Исследование выполнено на 35 монгольских песчанках *Meriones unguiculatus* в трёх сериях экспериментов: биологический контроль – 12 животных, синхронный эксперимент в наземных условиях по моделированию некоторых условий космического полета в макете полетной аппаратуры «Контур-А» – 11 объектов, в группе перенесших 12-суточный космический полет на КА «Фотон-М» №3 – 12 монгольских песчанок. Спустя 21 час после приземления животных декапитировали. Фрагменты тощей кишки, которые располагались на 10 см дистальнее двенадцатиперстного отдела, фиксировали в забуференном 10% нейтральном формалине при комнатной температуре, проводили через спирты, заливали в парафин. На срезах толщиной 6 мкм, окрашенных гематоксилином Карazzi – еозином, проводили обзорную микроскопию, измеряли длину ворсинок и высоту призматического эпителия, расположенного в нижнем, среднем и верхнем отделах ворсин с помощью системы анализа изображений «ВидеоТест-Морфо» [11]. В криптах определяли митотический индекс путем вычисления процентного отношения количества митозов на 2000 эпителиоцитов. Учитывали соотношение фаз митотического цикла: профазы, метафазы, анафазы и телофазы, а также наличие аномальных митозов, постоянно присутствующих в обновляющихся клеточных популяциях с высокой степенью пролиферации [1]. Морфологические основы железистой функции тощей кишки – бокаловидные клетки, являющиеся составной частью интестинального защитного барьера, изучали после окрашивания срезов гистохимическими методами с использованием альцианового синего и ШИК-реакции, выявляя кислые гликозаминогликаны и нейтральные гликопротеиды соответственно [5]. Определяли относительное содержание популяции бокаловидных экзокриноцитов на 3000 клеток эпителиального пласта ворсин. Оценивали секреторный цикл железистых эпителиоцитов, вычисляя среди них процентное содержание различных функциональных состояний: синтеза, накопления, выведения содержимого, опорожнения и истощения. Объем корректной выборки при проведении измерений каждого рассмотренного параметра определяли методом аккумулярованных средних [3, 15]. Полученный информационный массив статистически обрабатывался с использованием пакета стандартных компьютерных программ. Достоверность различий, исходя из полученного характера распределения данных, определялась при помощи критерия Стьюдента с уровнем значимости $p < 0,05$.

Результаты. Общий план строения стенки тощей кишки монгольских песчанок группы виварийного контроля оказался типичным для грызунов. Длина ворсинок составляла $339,4 \pm 12,3$ мкм с наибольшей высотой эпителиоцитов в среднем отделе. Численность бокаловидных экзокриноцитов в эпителиальном пласте составляла $12,9 \pm 0,4\%$ от общего числа клеток, при этом большинство из них были в состоянии «накопления» секрета (фото 1-А), содержащего как ШИК-позитивные нейтральные гликопротеиды, так и кислые гликозаминогликаны. Митотический индекс эпителия крипт тощей кишки составлял $2,95 \pm 0,32\%$. Наибольшее число делящихся клеток находилось в профазе митоза, наименьшее – телофазе. Встречаемость аномальных митозов характеризовалась широкой индивидуальной вариабельностью, в среднем составляя $6,3 \pm 1,5\%$ от числа всех делящихся эпителиоцитов в криптах тощей кишки. В слизистой оболочке виварийных монгольских песчанок постоянно обнаруживались лимфоциты, при этом очаги инфильтрации располагались как в собственной пластинке слизистой оболочки, так и в подслизистой основе, иногда в виде лимфоидных фолликулов. Последние варьировали в размерах, располагаясь своим основанием, как правило, на границе мышечного слоя и подслизистой оболочки.

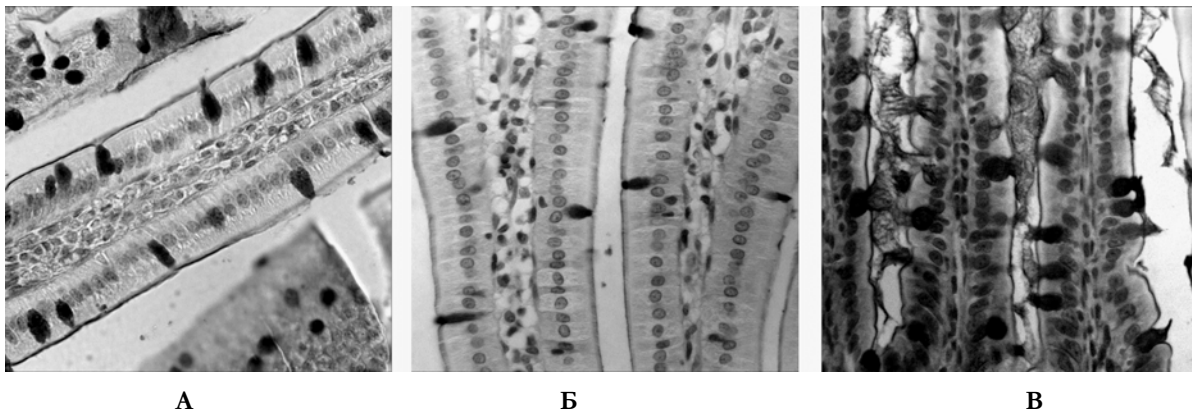
В эксперименте по моделированию некоторых условий космического полета достоверных изменений длины ворсинок и изменения толщин эпителия в их средней части по сравнению с показателями животных виварийной группы не происходило. В то же время, высота эпителиоцитов в верхнем и нижнем отделах ворсин достоверно снижалась с $25,9 \pm 0,9$ и $25,2 \pm 0,9$ мкм в группе биологического контроля до $23,4 \pm 0,7$ и $22,5 \pm 0,5$ мкм соответственно. Количество бокаловидных клеток в эпителии ворсин достоверно уменьшалось по сравнению с аналогичными показателями монгольских песчанок группы виварийного контроля с $12,9 \pm 0,4\%$ до $9,3 \pm 0,6\%$ (фото 1-Б).

Динамика пролиферативной активности и общее количество митозов в криптах тощей кишки практически не менялись в сравнении с аналогичными показателями монгольских песчанок группы виварийного контроля. Интенсивность лимфоидной инфильтрации слизистой оболочки, несмотря на широкую индивидуальную вариабельность, в целом имела большую выраженность в сравнении с показателями группы виварийных животных. Одновременно развивались расстройства микроциркуляции в виде дилатации сосудов в мышечном слое кишки и подслизистой основе.

Космический полет приводил к существенно изменению морфометрических показателей слизистой оболочки тощей кишки. По сравнению с животными из группы виварийного контроля и синхронного эксперимента, в целом достоверно укорачивались ворсины тощей кишки до $282,2 \pm 12,2$ мкм. Кроме того, у некоторых животных отмечалось ветвление ворсин, заполнение некоторых из них клеточным детритом с процес-

сами отторжения в просвет тонкой кишки, появление кистозных образований, выстланных призматическим эпителием, а также эпителиоцитов с картинами вакуолизации цитоплазмы и пикнотических изменений ядерных структур. Высота эпителия, покрывающего ворсины, достоверно снижалась по всей их поверхности в сравнении как с показателями животных из группы виварийного контроля, так и синхронного эксперимента. Количество бокаловидных экзокриноцитов в эпителиальном пласте достоверно возрастало по сравнению с группой синхронного эксперимента, достигая $13,5 \pm 0,8\%$ от общей численности эпителиального покрова, вместе с существенной интенсификацией процессов выведения секрета на поверхность слизистой оболочки. Об этом свидетельствовало увеличение численности бокаловидных экзокриноцитов в состоянии выведения, опорожнения и истощения секреции (фото 1-В). Митотическая активность эпителиоцитов крипт не претерпевала достоверных изменений, хотя некоторая тенденция к ее снижению имела место. По сравнению с показателями монгольских песчанок

из группы синхронного эксперимента, в митотическом цикле снижалась доля метафаз и возрастало количество телофаз. В большей степени по сравнению с животными группы синхронного эксперимента, выявлялись расстройства микроциркуляторного режима: дилатация сосудов, гемо- и лимфостаз, явления периваскулярного отека в подслизистой основе, собственной пластинке слизистой оболочки, эндомиозии мышечного слоя. Следует отметить, что расстройства гемодинамики, пролиферативная активность эпителиоцитов крипт тощей кишки и частота образования патологических фигур митозов имели весьма широкую индивидуальную вариабельность у отдельных животных. На фоне выявляемых трофических нарушений существенно возрастали масштабы лимфоцитарной инфильтрации интерстиция стенки тощей кишки. Становились частыми картины распространения мелкоочаговой инфильтрации по длине кишечной стенки и в толщу собственного слоя слизистой, а также появление в структурах стенки отдельных лимфоидных элементов и их скоплений.



Фотография 1. Бокаловидные клетки в ворсинах тощей кишки монгольских песчанок. Фиксация: 10% раствор нейтрального формалина на 0,1М фосфатном буфере pH 7,4. Методика: окрашивание альциановым синим, pH 2.5. Увеличение: 40x15.

Обозначения: А – Виварийный контроль. В эпителиальном пласте преобладают бокаловидные клетки (БК) в состоянии «накопления» и «синтеза». Б – Синхронный эксперимент. Снижение численности БК в сравнении с животными из группы виварийного контроля, секреторная активность без изменений. В – Космический полет. Активизация выведения секрета и возрастание численности БК в состояниях «выведения» и «истощения».

Обсуждение результатов. В проведенных ранее экспериментах по изучению биологических эффектов факторов космического полета многие исследователи обращали внимание на важное значение расстройств кровоснабжения и внутриорганного кровообращения в развитии изменений, вызванных невесомостью [7, 8, 10]. Аналогичная закономерность была обнаружена в нашей работе на монгольских песчанках, как в условиях по моделированию некоторых факторов космического полета, так и после 12-суточного орбитального полета. В тощей кишке монгольских песчанок из группы синхронного эксперимента обнаруживались признаки дисциркуляторных расстройств, приводящие к ухудшению трофического обеспечения зоны физиологической регенерации кишечного эпителия. Возможно, это стало причиной образо-

вания в криптах эпителиоцитов с вакуолизированной цитоплазмой и явлениями пикноза ядер. У животных из группы полетного эксперимента аналогичные изменения дистрофического характера были более выражены. Так, в клетках эпителия крипт некоторых монгольских песчанок обнаруживалась вакуолизация цитоплазмы, пикноз ядер, кариорексис и кариолизис. В то же время, следует отметить, что даже в таких условиях уровень клеточной пролиферации в регенераторных зонах крипт обладал достаточной стабильностью и не обнаруживал достоверных изменений по сравнению с показателями монгольских песчанок из групп синхронного эксперимента и виварийного контроля, что согласуется с результатами других исследований [16, 17]. У части монгольских песчанок, вернувшихся из орбитального полета, можно было обна-

ружить на месте некоторых ворсинок лишь наполненные клеточным детритом слизистые трубочки, отторгаемые в просвет тонкой кишки. Это позволяет предположить, что такого рода ограниченные изменения строения ворсин являются свидетельством быстрой ликвидации деструктивных изменений тощей кишки при нормализации микроциркуляторного режима и восстановления трофического обеспечения региона слизистой тощей кишки после приземления. Отражение аналогичных проявлений на ультраструктурном уровне в тонком кишечнике крыс, вернувшихся из 18,5-суточного космического полета, было показано Яковлевой Н.Д. с соавт. [14]. Существенная активация секреторной деятельности бокаловидных экзокриноцитов свидетельствует о значительном усилении их роли в поддержании морфологической целостности и функциональной состоятельности важнейшего проективного механизма кишечной трубки – гастроинтестинального защитного барьера [5].

Достоверное уменьшение длины ворсин тощей кишки монгольских песчанок, вернувшихся из орбитального полета, наблюдалось и у других млекопитающих [17]. Скорее всего, эта закономерность обусловлена изменениями состояния соединительной ткани ворсин, поскольку скорость образования эпителиоцитов не менялась. Для более полного понимания структурных перестроек тонкого кишечника в условиях невесомости необходимо провести тщательное исследование интерстициального компонента слизистой оболочки, что будет представлено в следующих публикациях.

Таким образом, 12-суточный космический полет приводил к уменьшению всасывающей поверхности тощей кишки монгольских песчанок, не отражаясь на активности процесса обновления эпителия ворсин. Возрастание численности бокаловидных клеток и активизация их секреторной активности, видимо, являются отражением адаптивных механизмов, направленных на поддержание функциональной компетентности пищеварительной трубки в условиях невесомости.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Алов И.А., Брауде А.И., Аспиз М.Е. Основы функциональной морфологии клетки. – М., Издательство «Медицина», 1969. – с.344.
2. Влияние динамических факторов космического полета на организм животных. Под ред. А.М.Генина. – М., Наука, 1979 г. – с.248.
3. Капланский А.С., Дурнова Г.Н., Орлов О.И., Ильин Е.А. Гистологическое исследование внутренних органов монгольской песчанки *Meriones unguiculatus* применительно к космическим экспериментам // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2008. – Т.42. №1. – С.28-31.
4. Кендалл М., Стюарт А. Статистические выводы и связи. Москва: Наука, 1973. – с.899.
5. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. Москва: Медицина, 1969. – 3 изд. – 288 с.
6. Могиляная Г.М., Могиляная В.А. Гастроинтестинальный защитный барьер. – Морфология, 2007. – Т.132. - №6. – С.9-16.
7. Португалов В.В. Еще раз о механизмах развития гистологических и цитохимических изменений у млекопитающих (крыс) в орбитальных полетах. – Архив анатомии, гистологии и эмбриологии, 1978. – Т.LXXV. – №9. С.23-29.
8. Смирнов К.В., Уголев А.М. Космическая гастроэнтерология. – М., Наука, 1981. – с. 277.
9. Смирнов К.В., Уголев А.М. Пищеварение и всасывание. В кн.: Человек в космическом полете. – М.:Наука, 1997. – 489 с. (Космическая биология и медицина, Т.III. – кн.1. – С.357-401).
10. Соловьев В.И., Юганов Е.М., Гайдамакин Н.А. и др. Изменения в органах черепах, находящихся в орбитальном полете на искусственных спутниках земли «Космос-605» и «Космос-613». – В кн.: Организмы и сила тяжести. – Вильнюс, 1976. – С.247-254.
11. Штейн Г.И., Пантелеев В.Г., Поваркова А.В., Кудрявцев Б.Н. Возможности анализатора изображений "Видеотест" для проведения микрофотометрических исследований в цитологии // Цитология. 1998. Т.40, №10. С.913-916.
12. Шубич М.Г., Горячева Л.А., Дудецкий В.А., Луценко Н.М., Могиляная Г.М. Гистохимическое исследование органов пищеварения крыс после полета на «Космос-605» / Космическая биология, 1977. – Т.11, №3. С. 40-49.
13. Шубич М.Г., Горячева Л.А., Дудецкий В.А., Луценко Н.М., Могиляная Г.М., Власов В.Г. Гистохимическое исследование органов пищеварения крыс, находившихся в космическом полете на спутнике «Космос-690» / Космическая биология, 1978. – Т.12, №4. С. 41-46.
14. Яковлева Н.Д., Погудина Н.А., Бродский Р.А. Ультраструктура слизистой оболочки тонкой кишки крыс после полета на биоспутнике «Космос-936» / Космическая биология, 1981. Т.15. №3. С.40-45.
15. Franklin C.D., Craig G.T. Stereological quantification of histological parameters in normal hamster cheek pouch epithelium. / Archives of oral biology. 1978. V. 23 №5. P.337-345.
16. Sawyer H.R., Moeller C.L., Phillips R.W., Smirnov K.L. Effects of spaceflight on the proliferation of jejunal mucosal cells. – FASEB J., 1990. – V.4. №1. P.92-94.
17. Sawyer H.R., Moeller C.L., Phillips R.W., Smirnov K.L. Proliferation of jejunal mucosal cells in rats flown in space / J. Appl. Physiol., 1992. - V.73. (2 suppl). - P.148S-150S.
18. Wong W., Poulsom R., Wright N. Trefoil peptides / Gut, 1999. – V.44. – P.890-895.

Надійшла 10.09.2011 р.

Рецензент: проф. В.І.Лузін