



НАУЧНЫЙ ЦЕНТР МИРОВОГО УРОВНЯ
ПАВЛОВСКИЙ ЦЕНТР
ИНТЕГРАТИВНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЫСОКОГО СКОРОСТНОГО АДАПТИВНОГО
И ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО СПЕЦИАЛИЗМА



Посвящается 60-летию
ГНЦ РФ – ИМБП РАН

ЗЕМЛЯ – ОРБИТА – ДАЛЬНИЙ КОСМОС

XVIII КОНФЕРЕНЦИЯ

ПО КОСМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И АВИАКОСМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ

С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ



7–9 ноября 2023 г.
Москва

mechanisms of collagen fibrillogenesis. The ability of MCs to rapidly re-synthesize key components of the secretome and to long-term reprogram the implementation of secretory pathway algorithms under conditions of altered gravity contrasts with the response of other immunocompetent cells of the tissue microenvironment, most of which undergo apoptosis after activation. In this regard, MCs have a high potential for a multifaceted effect on the immune and stromal landscapes of the tissue microenvironment, despite their relatively small number in the total cell pool.

MCs are closely integrated into the mechanisms of local homeostasis regulation interacting with parenchymal, immune and stromal cells, and the extracellular matrix through direct intercellular contacts or targeted degranulation. MCs with high selectivity use a multicomponent secretory arsenal, including preformed substances and mediators, their biogenesis is closely dependent on the state of the tissue microenvironment. Among pre-synthesized mediators in MC granules, one can single out biogenic amines (histamine, serotonin, dopamine, polyamines), proteases (chymase, tryptase, carboxypeptidase A3, cathepsin G, granzyme B, metalloproteinases), other enzymes (kinogenase, heparanase, angiogenin, active caspase -3), lysosome enzymes (β -hexosaminidase, β -glucuronidase, β -D-galactosidase, arylsulfatase A, cathepsins), proteoglycans (heparin, chondroitin sulfate), cytokines (TNF, IL-4, IL-15, etc.), chemokines (RANTES, eotaxin, IL-8, MCP-1, etc.), growth factors (TGF- β , bFGF, EGF, VEGF, NGF, FGF-2, SCF, PDGF), as well as regulatory peptides (corticoliberin, endorphin, endothelin-1, substance P, VIP, angiotensin, bradykinin, leptin, renin, somatostatin, etc.). During activation, MCs are capable of rapid generation of prostaglandins, leukotrienes and cytokine resynthesis, growth factors, mitogens, chemokines, etc.

Specific MC proteases – tryptase, chymase, and carboxypeptidase A3 - with a high selectivity for molecular, cellular, and tissue targets of the tissue microenvironment have a special morphogenetic role. MCs affect the intensity of angiogenesis, extracellular matrix remodeling, and the ability of the tissue microenvironment to adapt to weightlessness. Studies of MCs using the technology of multiplex immunohistochemistry, including ultrastructural analysis, allow not only establishing patterns of the spatial organization of the tissue microenvironment, but also to determine the prevailing mechanisms of action with the formation of short-term and long-term effects of adaptation to weightlessness.

Flight experiments on laboratory rodents with different SF durations (Mongolian gerbils – 12-day SF on the Foton-M-3 spacecraft, C57BL/6N mice – 30-day SF on the BION-M-1 biosatellite, C57BL/6J mice – 21–24 days stay on the ISS as part of the «Rodent Research-4» experiment) demonstrated a high gravisensitivity of MCs in the organs of the gastrointestinal tract and skin. In particular, after a 12-day SF, the ratio of proteases in Mongolian gerbils was redistributed in the context of a decreased amount of MCs in the stomach, small intestine, and liver; this consisting of an increased proportion of chymase-positive MCs and MCs with a simultaneous content of tryptase and chymase. Such a change in the expression of proteases was observed both in the mucosal and connective tissue subpopulations of MCs of the stomach and jejunum, indicating, among other things, the involvement of MCs in the regulation of the cardiovascular system. It is also necessary to note the adaptive functional remodeling of intercellular MC signaling, which occurs both in relation to immunocompetent and stromal cells.

In the skin of C57BL/6J mice from the flight group, there was observed a change in the histotopographic MC localization with signs of dissociated cooperation with fibroblastic differon cells and a decreased MC co-localization with reticular fibers. An active participation of MCs in the remodeling of the extracellular matrix under microgravity conditions was detected, this was mediated by direct effects on the stromal landscape provided by the skin tissue microenvironment and a decreased activity of fibroblast-associated MCs in relation to the polymerization of collagen molecules. The study of the physiological patterns maintaining homeostasis of the intercellular matrix of the connective tissue opens up not only new options to remodel experiments under weightlessness, but also the fundamental patterns of collagen fiber renewal.

Thus, MCs are a promising area of research in personalized space biomedicine, with multifaceted potentials to effectively translate modern ideas on the organization of a local tissue microenvironment and further improve measures to prevent physiological effects of orbital flight factors.

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТОЯНИЯ КОСТЕЙ ЗАДНЕЙ КОНЕЧНОСТИ ПРИ НЕИСПОЛЬЗОВАНИИ: АНАЛИЗ У КРЫС С ТРАВМОЙ СПИННОГО МОЗГА

Ахметзянова А.И., Балтин М.Э., Сабирова Д.Э., Еремеев А.А., Саченков О.А., Балтина Т.В.

Казанский федеральный университет, Казань, Россия

ahmetzyanova0@gmail.com

Механические силы, прикладываемые к костям, которые имеют решающее значение для здоровья скелета, исходят из двух основных источников: внешней гравитационной нагрузки за счет сил реакции опоры

и внутренней нагрузки за счет мышечных сокращений. Эти силы могут быть значительно уменьшены при травме спинного мозга (ТСМ). ТСМ приводит к параличу и уникальной форме нейрогенной потери костной массы, которая является более быстрой и обширной, чем та, которая сопровождает другие виды неиспользования, например изменение гравитации.

Целью работы является оценка влияния полной травмы спинного мозга и контузионной травмы на механические свойства костей у крыс: предел прочности и модуль упругости костной ткани берцовой и бедренной костей.

Исследование проводилось на нелинейных крысах весом 180–200 г. Все эксперименты осуществлялись в соответствии с биоэтическими стандартами и одобрены Локальным комитетом по этике Казанского федерального университета (протокол № 2 от 29.05.2018). Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществлялись в соответствии с требованиями Директивы Европейского парламента и Совета от 22 сентября 2010 г. по защите животных, используемых для научных целей.

Все процедуры выполнялись под комбинированной внутримышечной анальгезией с использованием золетила (Zoletil 50, Virbac, Франция) в дозировке 1 мг/кг и ксилавета инъекционного (XylaVET, Pharmatagist Ltd, Венгрия) в дозировке 0,05 – 0,10 мл/кг. Дозировку подбирали в соответствии с весом экспериментального животного. Эвтаназия животных осуществлялась путем декапитации на гильотине.

Животные были разделены на три экспериментальные группы:

1. КТСМ – животные с контузионной травмой спинного мозга, 11 животных, 22 образца бедренной и 22 образца берцовой кости.

2. ПТСМ – животные с полной травмой спинного мозга, 5 животных, 10 образцов бедренной и 10 образцов берцовой кости.

3. Контроль – интактные животные, 5 животных, 10 образцов бедренной и 10 образцов берцовой кости.

В ходе эксперимента воспроизводилась стандартная модель полной и контузионной травмы спинного мозга средней степени тяжести. Контузионную травму спинного мозга (КТСМ) наносили на уровне Th8–Th9 по модифицированной методике Allen с помощью вертикально падающего груза массой 2,5 г с высоты 5 см. Полную травму спинного мозга (ПТСМ) наносили путем перерезки спинного мозга на уровне Th8–Th9.

Двигательная функция после травмы оценивалась в открытом поле, используя систему скрининга по шкале BBB.

После выведения животного из эксперимента (30-е сутки) производилось извлечение костей. Перед испытанием проводились измерения каждой кости, определялись геометрические, объемные и массовые характеристики. Определение массы кости осуществлялось с использованием электронных весов. Определение объема кости производилось погружным методом с использованием мерного цилиндра.

С использованием штангенциркуля проводились измерения проксимального, дистального и диафизарного участков кости. Для фиксации образцов в стаканах использовался сплав Вуда (12,5 % Al, 25 % Pb, 50 % Bi, 12,5 % Cd), позволяющий заплавить и тем самым зафиксировать образец. Низкая температура плавления (60 °C) обеспечивает сохранность образца от термического разрушения. Для оценки механических параметров (прочность и плотность) берцовой и бедренной кости крыс проводили испытание на трехточечный изгиб. Испытания производились на двухзональной универсальной испытательной машине УТС 110М-100 (Россия, г. Иваново). Выходными данными после проведения испытаний на прессе является файл, содержащий значения перемещения, прикладываемой нагрузки и времени.

При полной перерезке спинного мозга паралич задних конечностей наблюдался 30 суток, то есть отсутствовала нагрузка на задние конечности. При контузии спинного мозга полный паралич задних конечностей отмечали неделю после травмы, после трех недель было замечено поддерживаемое шаговое движение у крыс.

В группах с контузионной травмой спинного мозга и полной травмой спинного мозга были обнаружены следующие изменения прочности костной ткани: у берцовой и бедренной кости в группе КТСМ достоверно уменьшился предел прочности на 21,09 и 27,26 % соответственно относительно данных контрольной группы (бедренная – 150,77 ± 20,11 МПа; берцовая – 117,48 ± 9,90 МПа) ($p < 0,05$).

Значение предельного напряжения костей в группе ПТСМ также достоверно уменьшилось для бедренной кости на 19,29 % (117,48 ± 9,90 МПа) относительно данных контрольной группы ($p < 0,05$). Предел прочности берцовых костей из группы ПТСМ недостоверно уменьшился относительно данных группы контроля на 21 % (117,48 ± 9,90 МПа).

Модуль Юнга в группах контузионной и полной травмы спинного мозга изменился следующим образом: в группе КТСМ и ПТСМ значения модуля Юнга для берцовой кости недостоверно уменьшились относительно данных контрольной группы на 10,3 % (3243,93 ± 526,11 МПа) и 12,49 % (3165,50 ± 667,15 МПа) соответственно. Для бедренной кости групп КТСМ и ПТСМ недостоверно увеличились значения модуля Юнга относительно данных контрольной группы на 11,28 % (1627,83 ± 430,73 МПа) и 14,02 % (1667,78 ± 317,00 МПа).

У берцовой и бедренной костей в группе КТСМ достоверно уменьшилась плотность на 10,19 и 11,46 % соответственно относительно значений контрольной группы ($1,41 \pm 0,12$; $1,39 \pm 0,12$ г/см³). Значения плотности в группе ПТСМ достоверно увеличились на 2,54 % ($1,61 \pm 0,11$ г/см³) для берцовой кости относительно данных контрольной группы и достоверно уменьшились для бедренной кости также относительно данных контрольной группы на 5,09 % ($1,49 \pm 0,07$ г/см³).

Объем кости изменился следующим образом: для группы ПТСМ: достоверно увеличилось значение для берцовой и бедренной костей относительно данных контрольной группы на 26,47 и 36,17 % ($0,43 \pm 0,05$; $0,64 \pm 0,05$ см³) ($p < 0,05$). В группе КТСМ значение объема достоверно увеличилось на 11,76 % для берцовой ($0,38 \pm 0,04$ см³) и на 6,38 % для бедренной кости ($0,50 \pm 0,05$ см³) ($p < 0,05$).

Таким образом, снижение прочности бедренной и берцовой костей происходило при контузионной травме спинного мозга у крыс, а при полной травме только у бедренной кости. Модуль упругости и плотность костной ткани не изменялись при контузионной и полной травме спинного мозга, что позволяет предположить, что снижение прочности бедренной кости связано с пространственным перераспределением костного материала, а не с изменениями свойств костной ткани.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости разработки эффективных методов диагностики прочности костной ткани в случае травмы спинного мозга, чтобы своевременно предотвратить возможные осложнения и улучшить результаты лечения. Разработка эффективных методов диагностики прочности костной ткани может помочь в предотвращении этих проблем и улучшении процесса реабилитации космонавтов после полета.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 20–01–00535а.

CHANGES IN THE STATE OF THE HIND LIMB BONES DURING DISUSE: AN ANALYSIS IN RATS WITH SPINAL CORD INJURY

Ahmetzyanova A.I., Baltin M.E., Sabirova D.E., Ereemeev A.A., Sachenkov O.A., Baltina T.V.

Kazan Federal University

ahmetzyanova0@gmail.com

Mechanical forces applied to bones, which are crucial for skeletal health, originate from two main sources: external gravitational load through support reaction forces and internal load through muscular contractions. These forces can be significantly reduced in spinal cord injury (SCI), which leads to paralysis and a unique form of neurogenic bone loss that is more rapid and extensive than that accompanying other forms of disuse, such as altered gravity.

The aim of this study is to evaluate the impact of complete spinal cord injury and contusion injury on the mechanical properties of bones in rats: the ultimate strength and elastic modulus of cortical bone in the tibia and femur.

The study was conducted on nonlinear rats weighing 180–200 g. All experiments were carried out in accordance with bioethical standards and approved by the Local Ethics Committee of Kazan Federal University (Protocol No. 2 of May 29, 2018). Animal housing, feeding, care and removal from the experiment were carried out in accordance with the requirements of the European Parliament and Council Directive of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

«All procedures were performed under combined intramuscular analgesia using Zoletil 50 (Virbac, France) at a dosage of 1 mg/kg and XylaVET injection (Pharmmagist Ltd, Hungary) at a dosage of 0.05–0.10 ml/kg. The dosage was adjusted according to the weight of the experimental animal. Animal euthanasia was carried out by decapitation with a guillotine.

The animals were divided into three experimental groups:

1. CSCI - animals with contusion spinal cord injury, 11 animals, 22 samples of femur and 22 samples of tibia.
2. SCI-C - animals with complete spinal cord injury, 5 animals, 10 samples of femur and 10 samples of tibia.
3. Control - intact animals, 5 animals, 10 samples of femur and 10 samples of tibia.

During the experiment, a standard model of moderate severity complete and contusion spinal cord injury was reproduced. Contusion spinal cord injury (SCI-C) was applied at the level of Th8–Th9 using the modified Allen method with a vertically falling weight of 2.5 g from a height of 5 cm. Complete spinal cord injury (SCI-T) was induced by cutting the spinal cord at the level of Th8–Th9.