

11. Шарафутдинова, Л.А. Морфологическая характеристика селезёнки крыс при воздействии на организм наночастиц диоксида титана / Л.А. Шарафутдинова, В.В. Валиуллин // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2018. – Т. 15, № 6. – С. 830-839.
12. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes, complying with the requirements of the European Economic Area // Official Journal of the European Union L 276. - 2010, 20 October. – P. - 33-79.
13. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – P. 52.

REFERENCES

1. Dmukhal'skaya E.B. Costoyanie immunnnoy sistemy v kryys raznogo vozrasta pri deistvii tyazhelykh metallov i raundapa. E.B (The state of the immune system in rats of different ages under the action of heavy metals and roundup). Universum: khimiya i biologiya. 2018;51(9):4-6. (in Russ.).
2. Zaharov A.A., Lozychenko V.G. Changes in the structure of the rat spleen at immunostimulation in different gestation periods. Morfologicheskij al'manah imeni V.G. Koveshnikova. 2023; 21(1): 81-6. (in Russ.).
3. Kashchenko S.A., Semenchuk S.N. Influence of imunofan on the organometric parameters of the adrenal glands of laboratory animals in the experiment. Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj meditsinskoi akademii. 2018;17(1):19-23. (in Russ.).
4. Kashchenko S.A., Semenchuk S.N. Submicroscopic structure cortex of the adrenal glands after the administration of methotrexate in the experiment. Morfologicheskij al'manah imeni V.G. Koveshnikova. 2018;16(2):23-27. (in Russ.).
5. Makalish T.P. Morphometric features of the spleen of rats during the period of presenile changes under the influence of xenogeneic cerebrospinal fluid. Morfologicheskie vedomosti. 2017;25(3):46-48. (in Russ.).
6. Rybolovlev Yu.R., Rybolovlev R.S. Dozirovanie veshchestv dlya mlekoopitayushchikh po konstante biologicheskoi aktivnosti (Dosing of substances for mammals according to the constant of biological activity). Doklady AN SSSR. 1979;247(6):1513-1516. (in Russ.).
7. Belotserkovtseva L.D., Kovalenko L.V., Sinyukova T.A., Mordovina I.I. The state of cellular immunity and cytokine balance in pregnant women at intrauterine infection. Journal of Medical and Biological Research, 2021;9(3):316–326. doi: 10.37482/2687-1491-Z069. (in Russ.).
8. Statsenko E.A., Kozhemyaka I.Ya., Mishchenko N.P. Izmenenie organometricheskikh pokazatelei selezenki polovozrelykh i starykh kryys pri vvedenii im gidrokortizona (Change in organometric parameters of the spleen of mature and old rats with the introduction of hydrocortisone). Ukrainskii morfologicheskij al'manah imeni professora V.G. Koveshnikova. 2017;15(3):51-55. (in Russ.).
9. Statsenko E.A., Kozhemyaka I.Ya., Belik I.A. Ul'trastruktura beloi pul'py selezenki kryys pri vvedenii glyukokortikoidov (Ultrastructure of the white pulp of the rat spleen with the introduction of glucocorticoids). Morfologicheskij al'manah imeni V.G. Koveshnikova. 2019;17(1):71-76. (in Russ.).
10. Tsyrenova D.Z., Gulyaev S.M., Khobrakova V.B. The influence of phlomoides tuberosa extract on structure of spleen in immunosuppressive mice. Reviews on clinical pharmacology and drug therapy. 2017;15(1):53-57. doi:10.17816/RCF15-1-53-57 (in Russ.).
11. Sharafutdinova L.A., Valiullin V.V. Morphological characteristics of rats spleen when exposed to the nanoparticles of titanium dioxide. Journal of ural medical academic science. 2018;15(6):830-839. (in Russ.).
12. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes, complying with the requirements of the European Economic Area. St. Petersburg, 2012. 276:0033: 0079: EN: PDF (in Engl)
13. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. Strasbourg, 1986:52. (in Engl.).

УДК 611.6+59.084:615.37

© А.А. Болгарова, А.А. Захаров, 2024

А.А. Болгарова, А.А. Захаров
СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ
ШИШКОВИДНОГО ТЕЛА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ
ЖИВОТНЫХ ПРИ ИММУНОТРОПНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ
ФГБОУ ВО «Луганский государственный медицинский университет
имени Святителя Луки» Минздрава России, г. Луганск

Целью исследования было изучение особенностей строения шишковидного тела экспериментальных животных при иммуностимуляции.

Материал и методы. Исследование выполнено на 60 крысах зрелого возраста после введения имунофана. Крысы вывелись из эксперимента после применения препарата через 1, 7, 15, 30 и 60 суток. Изучались органометрические и микроморфометрические параметры шишковидной железы.

Результаты исследования. Полученные результаты указывают на активный ответ шишковидной железы на иммуностимуляцию. Введение иммуностимулятора приводило к статистически значимому увеличению морфометрических параметров шишковидной железы на поздних сроках наблюдения как на органном, так и светооптическом уровнях изучения, что может свидетельствовать о системной реакции органа на имунотропное воздействие.

Ключевые слова: шишковидное тело, крысы, имунофан.

А.А. Bolgarova, A.A. Zakharov
STRUCTURAL FEATURES OF THE PINEAL BODY
OF EXPERIMENTAL ANIMALS AT IMMUNOTROPIC EXPOSURE

The aim of the study was to investigate the structural features of the pineal body of experimental animals during immunostimulation.

Material and methods. The study was carried out on 60 mature rats after administration of imunofan. The rats were excised after administration of the drug after 1, 7, 15, 30 and 60 days. The features of the organometric and micromorphometric parameters of the pineal gland were studied.

The results obtained indicate an active response of the pineal gland to immunostimulation. The injection of an immunostimulator led to a statistically significant increase in the morphometric parameters of the pineal gland at late stages of observation at both the organ and light-optical levels of study, which may indicate a systemic reaction of the organ to immunotropic effects.

Key words: pineal body, rats, imunofan, cytokines.

В последнее время среди морфологов отмечается повышенный интерес к изучению морфофункциональных механизмов адаптации организма к изменяющимся условиям внутренней и внешней сред [1]. Этот интерес обусловлен как расширением спектра научных возможностей исследователей, так и ростом количества факторов, влияющих на состояние гомеостаза, на фоне возросшей экологической нагрузки на население планеты. Эндокринно-иммунная система, играющая ведущую регуляторную роль в организме, реагирует на различные воздействия путем изменения собственной реактивности, зачастую проявляющейся иммунной депрессией. Шишковидное тело, являясь центральным эндокринным органом, обладает определенным влиянием на органы иммуногенеза [4]. Однако среди большого массива информации о результатах клинических и лабораторно-инструментальных исследований шишковидной железы научные труды, отражающие морфологические особенности органа при внешних воздействиях, тем более при измененном состоянии иммунной системы, практически отсутствуют [2]. В связи с вышеизложенным целью исследования явилось изучение особенностей строения шишковидного тела экспериментальных животных при иммуностимуляции.

Материал и методы

Исследование выполнялось на 60 зрелых белых беспородных крысах-самцах массой 210-250 г. Иммуноактивное состояние моделировали путём введения имунофана внутримышечно по схеме в дозировке 0,7 мкг/кг массы тела. Экспериментальная группа включала в себя крыс зрелой группы, получавших однократно имунофан в дозе, приводящей к иммуностимулирующему эффекту [1].

Группа контроля состояла из животных, получавших 0,9% раствор NaCl в эквивалентном объеме по той же схеме. Животных выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом на 1-е, 7-е, 15-е, 30-е и 60-е сутки наблюдения. Забор органа осуществлялся в одно время суток с учетом положений директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза, а также требований и рекомендаций «Руководства по содержанию и использованию лабораторных животных» [3-5]. У крыс извлекали эпифиз с последующей его фиксацией его в 10% растворе

нейтрального формалина и подвергали стандартной гистологической проводке. Срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Абсолютную массу органа измеряли с помощью аналитических весов ВЛА-200, относительную – рассчитывали путем отношения указанного параметра к массе тела животного. Объем эпифиза определяли методом вытеснения воды в градуированном цилиндре. Линейные размеры органа измеряли с помощью морфометрического комплекса, включавшего микроскоп Olympus CX-41. Изучали особенности строения эпифиза у крыс контрольной группы и после иммуностимуляции: абсолютную и относительную массы, больший и меньший диаметры органа под микроскопом, объем. Оценивали микроморфометрические и иммунологические показатели шишковидного тела.

Полученные данные обрабатывали с использованием лицензионной программы «StatSoft Statistica v.6.0». Результаты исследования оценивали нормальным законом распределения с помощью критерия Шапиро-Уилки. Достоверность различий между показателями определяли с помощью критерия Стьюдента-Фишера ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

На светооптическом уровне у животных контрольной группы отмечены изменения изученных показателей, соответствующие возрастным особенностям органа (табл. 1).

После окончания применения иммуностимулятора было отмечено статистически достоверное увеличение концентрации цитокинов в плазме крови во все сроки наблюдения: уровень IL-1 β возрастал на 6,30%, 10,06%, 7,40%, 8,11% и 15,58% соответственно 1-е, 7-е, 15-е, 30-е и 60-е сутки наблюдения относительно данных контрольных групп животных (табл. 2). Аналогично изменялись и другие показатели медиаторов межклеточного взаимодействия: содержание IL-2 увеличивалось на 11,96%, 9,46%, 8,57%, 9,21% и 11,36%; IL-6 – на 8,07%, 9,39%, 10,20%, 8,49% и 10,09% соответственно срокам наблюдения. В то же время концентрация фактора некроза опухолей альфа изменялась диаметрально противоположно: статистически значимое снижение показателя составило 6,26%, 8,09%, 12,13%, 11,87% и 13,56% соответственно срокам наблюдения.

Таблица 1

Изменения морфометрических показателей пинеалоцитов эпифиза животных зрелого возраста контрольной группы в различные сроки наблюдения (M±m, n=6)

Показатель	Срок наблюдения, сутки				
	1-е	7-е	15-е	30-е	60-е
Абсолютная масса, мг	1,80±0,05	1,76±0,12	2,35±0,01*	2,34±0,01*	2,33±0,01*
Относительная масса, мг/г	0,018±0,0006	0,021±0,0008	0,021±0,0001*	0,025±0,0001*	0,024±0,0009*
Большой диаметр, мкм	218,86±3,66	251,97±5,26	292,11±6,71*	296,11±0,77*	298,71±1,17*
Меньший диаметр, мкм	189,43±2,41	108,63±2,42	135,23±2,99*	147,56±1,72*	157,9±1,23*
Объем, мм ³	13988623,96±270709,44	17573614,52±512187,11	23104420,13±368576,09*	25055526,52±173413,19*	26740242,73±244243,28*

* Статистически значимое отличие от контрольных данных (p<0,05)

Таблица 2

Показатели иммунограммы шишковидной железы животных зрелого возраста при иммуностимуляции в различные сроки наблюдения (M±m, n=6)

Показатель	Срок наблюдения, сутки				
	1-е	7-е	15-е	30-е	60-е
IL-1β, пг/мл	9,57±0,17	10,42±0,21	10,25±0,22*	10,23±0,05*	10,26±0,22*
IL-2, пг/мл	7,49±0,07	8,09±0,02	7,54±0,21*	8,28±0,20*	7,89±0,15*
IL-6, пг/мл	5,53±0,04	6,08±0,06	6,24±0,03*	6,2±0,23*	6,53±0,25*
TNF-α, пг/мл	8,79±0,25	8,83±0,04	9,12±0,27*	9,38±0,24*	8,6±0,25*

* Статистически значимое отличие от контрольных данных (p<0,05)

Особенности строения эпифиза мозга крыс репродуктивного периода контрольной группы были подробно описаны ранее [3].

Отличия изученных параметров от контрольных данных были найдены на 15-е, 30-е и 60-е сутки после окончания введения иммуностимулятора. Увеличение абсолютной массы на 6,53%, 8,48% и 11,49%, относительной – на 17,95%, 20,11% и 21,43%, повышение показателя большего диаметра шишковидного тела на 6,43%, 8,63% и 9,62%, меньшего – 9,29%, 9,69% и 10,35%, объема – 27,12%, 30,69% и 33,48% относительно данных контрольной группы животных. На ранних сроках наблюдения (1-е и 7-е сут.) параметры статистически значимо не различались.

На светооптическом уровне достоверные отличия от контрольных данных также наблюдались на 15-е, 30-е и 60-е сутки. Диаметры клетки увеличивались на 3,93%, 8,24%, 13,15% и 7,04%, 9,37%, 10,54% соответственно, аналогичные изменения коснулись и диаметров ядра как показателя функциональной активности клетки – на 4,49%, 7,23%, 9,74% и 4,06%, 7,66%, 10,16% соответственно большему и меньшему показателям, содержание темных пинеалоцитов возросло на 3,43%, 3,38% и 5,24% (рис.).

Объемные параметры клетки и её ядра возросли на 19,14%, 29,45%, 38,30% и 13,11%, 24,28%, 33,18% относительно данных контрольной группы животных. В то же время на 1-е и 7-е сутки параметры статистически значимо не различались.

По данным литературы нейрогуморальная регуляция физиологических функций существенно меняется в связи с ингибированием или активацией функций шишковидного

тела. Так, В.М. Мадатова изучала влияние эпифиза мозга на гемокоагуляцию у животных в экспериментальных условиях [8].

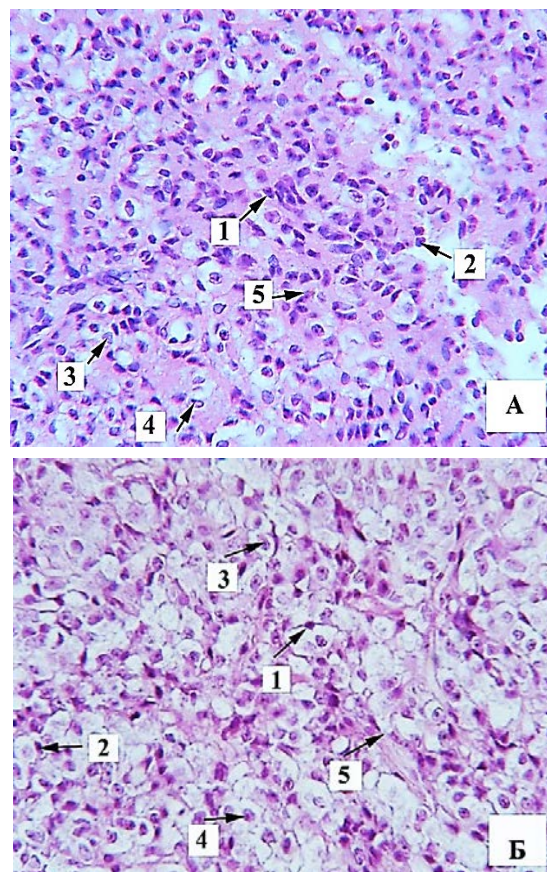


Рис. Участок шишковидной железы крысы на 15-е сутки наблюдения: А – контрольной группы, Б – при иммуностимуляции: 1 – темный пинеалоцит, 2 – ядро темного пинеалоцита, 3 – светлый пинеалоцит, 4 – ядро светлого пинеалоцита, 5 – «мозговой песок». Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение: приближение: Zoom 18,5; объектив: PlanCN 40x/0.65 ∞/0.17/FN22.

Различные экспериментальные условия ускоряют процесс гемокоагуляции. Гиперкоагуляция наблюдалась у эпифизэктомизированных животных. Установлено, что чередование

повышенной активности мелатонинобразовательной функции эпифиза мозга и ее ингибирования меняет образование тропных релизинг-факторов ядер гипоталамуса и тропного гормонообразования в гипофизе. Это играет решающую роль в суточном ритме физиологических процессов. Также доказано, что ингибирование синтеза мелатонина сопровождается снижением интенсивности гуморальных и клеточных иммунных ответов [9].

С другой стороны, Regina P. Markus et al. (2007) указывают на факт связи ночного выброса мелатонина и повышенной выработки IL-2 Т-хелперными лимфоцитами, что оказывает иммуностимулирующий эффект [10]. В противном случае высвобождение TNF- α из активированных макрофагов подавляет ночной выброс мелатонина, обеспечивая полноценную миграцию клеток и подавляя выработку IL-2. Таким образом, виртуальная ось организма между иммунной системой и шишковидной железой, участ-

вующая в выработке мелатонина шишковидной железой и иммунокомпетентными клетками, является неотъемлемым участником врожденного иммунного ответа.

Выводы

1. Полученные результаты позволяют судить о высокой реактивности шишковидного тела крыс зрелого возраста в условиях иммуностимуляции.

2. Введение иммуностимулятора статистически значимо увеличивало морфометрические параметры шишковидной железы на поздних сроках наблюдения на органном и светооптическом уровнях изучения, что свидетельствует о возможной системной реакции органа на иммунотропное воздействие.

3. Отсутствие достоверных отличий изученных показателей на ранних сроках наблюдения, по-видимому, связано с фармакодинамическими свойствами препарата, имеющего фазность действия.

Сведения об авторах статьи:

Болгарова Алина Александровна – ассистент кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО ЛГМУ им. Свт. Луки Минздрава России. Адрес: 291045, г. Луганск, кв-л 50-летия обороны Луганска, 1г. E-mail: alina-wilder@mail.ru.

Захаров Алексей Александрович – д.м.н., профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО ЛГМУ им. Свт. Луки Минздрава России. Адрес: 291045, г. Луганск, кв-л 50-летия обороны Луганска, 1г. E-mail: masterhist@mail.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баринский, И.Ф. Изучение эффективности использования отечественных иммуномодуляторов, а также сочетанного их действия со специфическими вакцинами при экспериментальных арбовирусных инфекциях / И.Ф. Баринский, А.А. Лазаренко, Л.М. Алимбарова // Иммунология. – 2012. – № 4. – С. 181-183.
2. Бобрышева, И.В. Иммуномодулятор «Имунофан» влияет на клеточный состав морфофункциональных зон тимуса крыс и замедляет его возрастную инволюцию / И.В. Бобрышева // Вестник РГМУ, 2016. – № 3. – С. 38.
3. Захаров, А.А. Органометрические особенности эпифиза белых крыс при иммуносупрессии / А.А. Захаров, А.А. Дикая // Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова, 2021. – № 19. – С. 53.
4. Куклина, Е.М. Механизмы взаимодействия мелатонина с лимфоцитами / Е.М. Куклина, Н.С. Глебздина // Вестник Пермского университета. Сер. Биология, 2023. – Вып. 2. – С. 195-204.
5. Этические вопросы использования животных в учебной работе и научных исследованиях: тез. докл. Белорусско-британского симпозиума (16-18 окт., Минск, 1997), 1998. – 140 с.
6. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. Strasbourg, 1986. – P. 1-52.
7. Guide for the care and use of laboratory animals: National Academies Press, Washington, D.C. – 2010. – P. 219.
8. Мадатова, В. М. Влияние облучения на гемокоагуляцию у животных при различных экспериментальных условиях / В.М. Мадатова // Бюллетень науки и практики, 2022. – № 6. – С. 74-78.
9. МаксUTOва, Г.И. Роль эпифиза в регуляции психофизиологических функций организма / Г.И. МаксUTOва // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований, 2016. – № 6. – С. 485-487.
10. Markus, R.P. The immune-pineal axis: a shuttle between endocrine and paracrine melatonin sources / R.P. Markus, Z.S. Ferreira, P.A. Fernandes, E. Cecon // Neuroimmunomodulation. – 2007. – 14 (3-4). – P. 126-33.

REFERENCES

1. Barinsky I.F., Lazarenko A.A., Alimbarova L.M. The study of the effectiveness of the use of domestic immunomodulators, as well as their combined action with specific vaccines in experimental arbovirus infections Immunologiya. 2012;4:181-183. (in Russ)
2. Bobrysheva I.V. Immunomodulator «Imunofan» affects the cellular composition of the morphofunctional zones of the rat thymus and slows down its age-related involution. Bulletin of RSMU. 2016;3:38. (in Russ)
3. Zakharov A.A., Dikaya A.A. Organometric features of the epiphysis of white rats with immunosuppression. Morphological almanac named after V.G. Koveshnikov. 2021;19:53. (in Russ)
4. Kuklina E.M., Glezhdina N.S. Mechanisms of interaction of melatonin with lymphocytes. Bulletin of the Perm University. Ser. Biology. 2023;2:195-204. (in Russ) <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-2-195-204>.
5. Jetcheskie voprosy ispol'zovanija zhivotnyh v uchebnoj rabote i nauchnyh issledovanijah (Ethical issues of the use of animals in educational work and scientific research). Tezisy dokladov Belorussko-britanskogo simpoziuma (16-18 okt., Minsk, 1997). 1998:140 (in Russ)
6. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes: Council of Europe 03/18/1986. Strasbourg, 1986:1-52. (in Engl)
7. Guide for the care and use of laboratory animals: National Academies Press, Washington, D.C. 2010:219. (in Engl)
8. Madatova V. M. The effect of radiation on hemocoagulation in animals under various experimental conditions. Bulletin of Science and Practice. 2022;8(6):74-78. (in Russ)
9. Maksutova G.I. The role of the epiphysis in the regulation of psychophysiological functions of the body. International Journal of Applied and Fundamental Research. 2016;6-3:485-487. (in Russ)
10. Markus R.P., Ferreira Z.S., Fernandes P.A., Cecon E. The immune-pineal axis: a shuttle between endocrine and paracrine melatonin sources. Neuroimmunomodulation. 2007; 14 (3-4):126-33. (in Engl)