

ОБРАТИМОСТЬ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В СЕЛЕЗЕНКЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ ИНТЕНСИВНОЙ СВЕТОВОЙ ДЕПРИВАЦИИ

О. В. Злобина — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, доцент кафедры гистологии, цитологии, эмбриологии, кандидат медицинских наук; **А. Н. Иванов** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, заведующий отделением лабораторной диагностики, ведущий научный сотрудник отдела фундаментальных и клинично-экспериментальных исследований, доктор медицинских наук; **А. Ю. Каретникова** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, студент; **Е. С. Терехина** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, студент; **Н. В. Шляпников** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, студент; **Ю. Ю. Труфанова** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, доцент кафедры гистологии, цитологии, эмбриологии, кандидат медицинских наук; **И. О. Бугаева** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, заведующая кафедрой гистологии, цитологии, эмбриологии, профессор, доктор медицинских наук.

REVERSIBILITY OF MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE SPLEEN UNDER THE INFLUENCE OF INTENSIVE LIGHT DEPRIVATION

O. V. Zlobina — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Assistant Professor of Department of Histology, Cytology, Embryology, PhD; **A. N. Ivanov** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Head of Department of Laboratory Diagnostics, Leading Research of Department of Fundamental, Clinical and Experimental Studies, DSc; **A. Yu. Karetnikova** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Student; **E. S. Terekhina** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Student; **N. V. Shlyapnikov** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Student; **Yu. Yu. Trufanova** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Assistant Professor of Department of Histology, Cytology, Embryology, PhD; **I. O. Bugaeva** — Saratov State Medical University n. a. V. I. Razumovsky, Head of Department of Histology, Cytology, Embryology, Professor, DSc.

Дата поступления — 16.03.2020 г.

Дата принятия в печать — 04.06.2020 г.

Злобина О. В., Иванов А. Н., Каретникова А. Ю., Терехина Е. С., Шляпников Н. В., Труфанова Ю. Ю., Бугаева И. О. Обратимость морфологических изменений в селезенке под влиянием интенсивной световой депривации. Саратовский научно-медицинский журнал 2020; 16 (2): 526–529.

Цель: оценить морфологическое состояние селезенки белых крыс-самцов под влиянием светового десинхронизма и провести анализ степени обратимости этих изменений. **Материал и методы.** Эксперимент проведен в два этапа на 60 белых крысах-самцах, разделенных на пять равных групп: контрольную и четыре опытные. В первой серии эксперимента первая и вторая опытные группы находились под круглосуточным освещением в течение 10 и 21 суток. На втором этапе животные третьей и четвертой групп подвергались круглосуточному освещению в течение 10 и 21 суток, а затем содержались в условиях естественного освещения на протяжении 21 суток. Оценивали следующие морфологические и морфометрические параметры: площади лимфоидного фолликула, Т- и В-зависимых зон белой пульпы, количество центров размножения и иммунобластов в Т- и В-зонах в 10 полях зрения. **Результаты.** На 10-е сутки эксперимента происходило увеличение площади лимфоидного фолликула, Т- и В-зависимых зон, количества иммунобластов при сравнении с контролем. На 21-е сутки отмечено снижение всех указанных показателей. При изучении последствий, произошедших после 10-х суток эксперимента, был установлен рост всех значений. При оценке изменений после 21-дневного воздействия отмечено увеличение показателей относительно второй опытной группы и приближение к значениям контроля. **Заключение.** Обнаруженные морфологические изменения селезенки свидетельствуют о негативном воздействии длительной световой депривации на органы иммунной системы. Однако на основании динамики показателей можно сделать вывод об обратимости данных изменений.

Ключевые слова: световой десинхронизм, морфологическое состояние селезенки, иммунитет.

Zlobina OV, Ivanov AN, Karetnikova AY, Terekhina ES, Shlyapnikov NV, Trufanova YuYu, Bugaeva IO. Reversibility of morphological changes in the spleen under the influence of intensive light deprivation. Saratov Journal of Medical Scientific Research 2020; 16 (2): 526–529.

The goal to assess the morphological and functional state of the spleen of white male rats under the influence of light desynchronization and to analyze the degree of reversibility of these changes. **Material and methods.** The experiment was carried out in two stages on 60 white male rats, divided into five equal groups: control and four experimental. In the first series of the experiment, the first and second experimental groups were illuminated around the clock for 10 and 21 days. At the second stage, animals of the third and fourth groups were exposed to illumination around the clock for 10 and 21 days, and then kept in natural light for 21 days. The following morphological and morphometric parameters were evaluated: the area of the lymphoid follicle, T- and B-dependent zones of white pulp, the number of reproduction centers and immunoblasts in the T- and B-zones in 10 fields of view. **Results.** On the 10th day of the experiment, there was an increase in the area of the lymphoid follicle, T- and B-dependent zones, the number of immunoblasts when compared with the control. In animals of the third group, an increase in these indicators was observed. On the 21st day, a decrease in all measured values was noted. In animals of the fourth group, the indicators increased relative to the second experimental one and approached the control values. **Conclusion.** The detected morphological and functional changes in the spleen are associated with the negative effects of prolonged light deprivation on the organs of the immune system. However, indicators are subject to change.

Key words: light desynchronization, morphological state of the spleen, immunity.

Введение. Большинство явлений на нашей планете зависят от изменяющихся условий внешней среды, таких как смена времен года и климата. В связи с этим многие процессы в организме человека также

имеют выраженную цикличность [1]. Циркадианные ритмы — циклические колебания интенсивности различных биологических процессов, связанные со сменой дня и ночи и регулирующие слаженную работу всего организма. Удлинение светового дня и использование источников искусственного освещения ночью ведут к ухудшению естественных регуляторных механизмов, а следовательно, к морфологическим

Ответственный автор — Злобина Ольга Вячеславовна
Тел.: +7 (8452) 669803
E-mail: zlobinaow@mail.ru

и функциональным нарушениям во многих органах и системах [2].

Сегодня наблюдается повсеместное увеличение светового дня и изменение суточных ритмов человека, связанные с частыми и длительными перелетами, работой в поздние и ночные часы. Перечисленные факторы могут стать причиной развития светового десинхроноза — нарушения биологических ритмов организма, связанных с естественными суточными изменениями светового режима [3].

Световой десинхроноз — стрессорный фактор, оказывающий влияние на многие системы организма: эндокринную, сердечно-сосудистую, нервную, в том числе и на такую лабильную, как иммунная [4, 5]. Говоря об иммунной системе, нельзя не упомянуть о селезенке — периферическом органе иммуногенеза, принимающем участие в формировании иммунологической реактивности [6]. В настоящее время воздействие светового десинхроноза на иммунную систему в морфологическом аспекте изучено недостаточно. При этом открытым остается вопрос об обратимости подобных изменений и анализе отдаленных последствий нарушений суточного фотопериодизма. Исходя из этого можно утверждать, что необходимость исследования этой проблемы очень высока.

Цель: оценить морфологическое состояние селезенки белых крыс-самцов под влиянием светового десинхроноза и провести анализ степени обратимости этих изменений.

Материал и методы. Экспериментальное исследование проведено в соответствии с правилами лабораторной практики (приказ Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н), Женевской конвенцией «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals» (Geneva, 1990), Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в эксперименте и других научных целях (Страсбург, 1986) ETS N 123, Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным, Федеральным законом от 1 декабря 1999 г. «О защите животных от жестокого обращения», с одобрения этического комитета ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им В.И. Разумовского» Минздрава России (протокол №4 от 6 декабря 2016 г.) на базе научно-исследовательской лаборатории кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России.

Эксперимент проведен на 60 нелинейных белых крысах-самцах массой 170–220 г, разделенных на пять равных групп: контрольную и четыре опытные. В первой серии эксперимента первая и вторая опытные группы находились под круглосуточным освещением в течение 10 суток и 21 суток с использованием модели «Light Light» (интенсивность освещения 300 лк в светлое время суток и 500 лк — в темное), на втором этапе животные третьей и четвертой групп подвергались круглосуточному освещению в течение 10 и 21 суток, а затем содержались в условиях естественного освещения на протяжении 21 суток [7].

После выведения животных из эксперимента путем передозировки препаратов для наркоза (внутримышечная комбинация Телазола (Zoetis Inc, США) в дозе 0,2 мл/кг и Ксиланита (Нита-Фарм, Россия) в дозе 0,2 мг/кг, образцы селезенки изымались, фиксировались 10%-м раствором формалина. Гистологические срезы готовили по стандартной методике, окрашивали гематоксилином и эозином.

Морфологический и морфометрический анализы проводили с использованием микровизора mVizo-103 при 5- и 63-кратном увеличении объектива, оценивая следующие параметры: площадь лимфоидного фолликула, площади периартериальной лимфоидной муфты и В-зависимой зоны белой пульпы, количество иммунобластов в Т- и В-зонах и центров размножения в 10 полях зрения.

Обработка полученных результатов осуществлялась при помощи прикладных статистических программ Statistica 10 (StatSoft®, США). Оценку значимости различий производили при помощи U-критерия Манна — Уитни в связи с тем, что выборка не соответствовала закону нормального распределения. Значимыми считали изменения при $p < 0,05$. Для каждого исследуемого параметра вычисляли медиану (Me) и межквартильный размах.

Результаты. В ходе проведенного морфологического и морфометрического исследований установлено, что на 10-е сутки эксперимента у животных первой опытной группы отмечался статистически значимый рост площади лимфоидного фолликула белой пульпы по сравнению с группой контроля на 18%. При этом количество герминативных центров статистически значимо снижалось на 18% относительно интактной группы. Выявлены изменения в размерах функциональных зон лимфоидных узлов белой пульпы: площади В- и Т-зависимых зон статистически значимо увеличивались на 35% относительно контроля (таблица). Наблюдалось статистически значимое увеличение количества иммунобластов в данных зонах на 83 и 56% соответственно по отношению к значениям контрольной группы.

При изучении обратимости изменений (третья опытная группа) у животных происходило статистически значимое увеличение площади лимфоидного фолликула на 23% по отношению к контролю, так же данная величина незначительно увеличилась при сравнении с первой экспериментальной группой. Помимо этого, установлено статистически значимое снижение количества реактивных центров на 17% относительно интактной группы, но при сравнении показателя с 10-ми сутками отмечено значимое увеличение данной величины на 25%. В то же время, по данным исследования, выявлено увеличение площади Т- и В-зон относительно контрольной группы на 28 и 45% соответственно. При сравнении площади периартериальной зоны и В-зависимой зоны 10-х суток и третьей экспериментальной группы отмечено незначительное увеличение показателей. Наряду с увеличением площади, занимаемой периартериальными влагищами и лимфоидными узелками, в них увеличивалось количество иммунобластов: в В-зависимой зоне — на 17%, в Т-зависимой зоне — на 13% при сопоставлении с интактной группой. Однако при сравнении со значениями первой опытной группы зафиксировано, что происходило статистически значимое снижение показателей на 31 и 35% соответственно.

На 21-е сутки эксперимента (вторая опытная группа) выявлено снижение динамики роста всех морфометрических показателей селезенки. Установлено статистически значимое уменьшение площади лимфоидного фолликула белой пульпы, Т- и В-зависимых зон относительно контрольных величин на 34, 17 и 35% соответственно. Наблюдалось статистически значимое снижение количества иммунобластов в периартериальной зоне белой пульпы на 87% и в В-зависимой зоне на 83% при сравнении

**Морфометрические показатели структур селезенки
при световом десинхронозе в эксперименте на белых крысах-самцах**

Показатель	Контрольная	Первая опытная (10-е сутки)	Вторая опытная (21-е сутки)	Третья опытная (10-е сутки, обратимость)	Четвертая опытная (21-е сутки, обратимость)
Площадь фолликула, мкм ²	0,131 (0,107; 0,149)	0,158 (0,135; 0,166) $p_1=0,002$	0,086 (0,080; 0,091) $p_1<0,001$	0,161 (0,140; 0,168) $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	0,109 (0,103; 0,117) $p_1<0,001$ $p_3<0,001$
Площадь Т-зоны, мкм ²	0,051 (0,042; 0,072)	0,069 (0,062; 0,076) $p_1=0,019$	0,042 (0,037; 0,050) $p_1<0,001$	0,071 (0,063; 0,078) $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	0,048 (0,042; 0,057) $p_1=0,015$ $p_3<0,001$
Площадь В-зоны, мкм ²	0,031 (0,023; 0,037)	0,042 (0,036; 0,046) $p_1<0,001$	0,020 (0,017; 0,023) $p_1=0,002$	0,045 (0,041; 0,056) $p_1=0,008$ $p_2<0,001$	0,025 (0,023; 0,034) $p_1=0,414$ $p_3<0,001$
Количество реактивных центров, шт. в 10 п. з. об. 5х	6 (5; 7)	4 (4; 5) $p_1=0,006$	1 (1; 2) $p_1<0,001$	5 (3; 6) $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	4 (3; 4) $p_1<0,001$ $p_3<0,001$
Иммунобласты в В-зоне, шт. в 10 п. з. об. 63х	6 (5; 7)	11 (10; 12) $p_1<0,001$	1 (1; 2) $p_1<0,001$	7 (5; 8) $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	6 (5; 7) $p_1=0,130$ $p_3<0,001$
Иммунобласты в Т-зоне, шт. в 10 п. з. об. 63х	8 (6; 9)	13 (11; 14) $p_1<0,001$	1 (1; 2) $p_1<0,001$	9 (8; 9) $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	8 (7; 8) $p_1=0,130$ $p_3<0,001$

Примечание: в каждом случае приведены медиана, верхний и нижний квартили; p_1 — по сравнению с контрольной группой; p_2 — по сравнению с первой опытной группой (10-ми сутками), p_3 — по сравнению со второй опытной группой (21-ми сутками).

с интактными животными. Кроме того, происходило выраженное снижение количества центров размножения на 83% по отношению к контролю.

При изучении обратимости изменений, произошедших на 21-е сутки эксперимента (четвертая опытная группа), наблюдалось статистически значимое уменьшение площади лимфоидного фолликула белой пульпы на 17% при сравнении с контролем. Однако по отношению ко второй экспериментальной группе показатель статистически значимо увеличился на 31%. Вместе с тем площадь В-зависимой зоны имела следующую динамику: имела тенденцию к уменьшению на 19% относительно контроля и статистически значимо увеличивалась на 25% при сравнении с 21-ми сутками. Так же и периаартериальная зона имела тенденцию к незначительному уменьшению показателя при сравнении с контрольной группой и статистически значимо увеличивалась на 14% по отношению ко второй опытной группе. Отмечено значимое снижение количества герминативных центров на 33% при сравнении с данными контрольных животных и увеличение показателя в 3 раза по отношению к значениям 21-х суток. Количество иммунобластов в В- и Т-зависимых зонах относительно значений контроля не изменилось, при сравнении с 21-ми сутками отмечалось статистически значимое увеличение в 5 и 7 раз соответственно.

Обсуждение. Продолжительное воздействие искусственного освещения приводит к развитию светового десинхроноза, являющегося мощным стрессовым фактором для организма животных. В условиях длительной световой депривации происходит снижение выработки эпифизарного мелатонина — основного гормона, регулирующего циркадианные ритмы всех живых организмов и вызывающего усиление пролиферативной активности клеток лимфоидного ряда [8]. Помимо этого, при длительном раздражении сетчатки глаза и нарушении биологических ритмов

происходит развитие стресс-реакции, сопровождающейся повышением концентрации адренокортикотропного гормона и катехоламинов в крови [9].

В результате воздействия мощного стрессового фактора к 10-м суткам эксперимента происходит увеличение всех морфометрических показателей селезенки: площадей Т- и В-зависимых зон и количества иммунобластов в этих зонах. Выявленные изменения связаны с активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпатoadренальной стресс-реализующих систем и выбросом катехоламинов, повышающих пролиферативную активность лимфоцитов [10].

При изучении обратимости процессов, произошедших на 10-е сутки, отмечено продолжение роста подавляющего числа показателей относительно контрольных величин. Дальнейшее увеличение пролиферативной и бластотрансформационной активности клеток лимфоидного ряда, вероятно, обусловлены иммуностимулирующим влиянием адренокортикотропного гормона и катехоламинов [11]. При длительности световой депривации на протяжении 10 суток морфологические изменения в паренхиме селезенки не достигают стадии истощения, что объясняет стабильно высокие значения показателей у третьей опытной группы.

На 21-е сутки эксперимента происходит формирование значительных изменений морфологического состояния селезенки. При более продолжительном световом воздействии и в условиях хронической нехватки эпифизарного мелатонина происходит активация стресс-реализующих систем: симпатoadренальной и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой. Отмечается снижение всех измеряемых показателей, сопровождающееся достоверным уменьшением площадей Т- и В-зависимых зон и снижением числа иммунобластов в этих зонах [12].

При оценке обратимости изменений, выявленных к 21-м суткам эксперимента, обнаружено, что все значения увеличиваются относительно данных второй опытной группы и приближаются к контрольным значениям. Установленная динамика показателей позволяет судить об обратимости морфологических изменений, произошедших в паренхиме селезенки при интенсивной и продолжительной световой депривации. При этом иммунная система половозрелых особей, в отличие от других систем организма, отличается высокой лабильностью и широким диапазоном иммунологической реактивности, что может в значительной степени обуславливать полученные результаты [13].

Заключение. Обнаруженные морфологические изменения в паренхиме селезенки свидетельствуют о негативном воздействии длительной световой депривации на органы иммунной системы. Сдвиги измеряемых показателей связаны с развитием у животных биоритмических расстройств и последующей стрессовой реакции, обусловленной активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпатoadrenalовой систем. Анализ модели «Light Light» показывает, что продолжительное воздействие стресс-реализующих механизмов ведет к истощению адаптационных возможностей организма и прогрессирующей инволюции лимфоидной ткани. Тем не менее на основании динамики показателей можно сделать вывод об обратимости данных изменений.

Конфликт интересов. Экспериментальное исследование выполнено в рамках государственного задания ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России по теме «Разработка математической модели для оценки скорости трансформации функциональных изменений в целостном организме при световом десинхронозе в необратимые морфологические изменения органов-мишеней в эксперименте». Срок выполнения — 2018–2020 гг.

References (Литература)

1. Rapport SI, Chibisov SM, Blagonravov ML. Actual problems of chronobiology and chronomedicine (according to the materials of the congress). *Clinical Medicine* 2013; (9): 71–3. Russian (Раппорт С. И., Чибисов С. М., Благонравов М. Л. Актуальные проблемы хронобиологии и хрономедицины (по материалам съезда). *Клиническая медицина* 2013; (9): 71–3).
2. Rapoport SI. Chronomedicine, circadian rhythms. Who needs this? *Clinical medicine* 2012; (8): 73–5. Russian (Раппорт С. И. Хрономедицина, циркадианные ритмы. Кому это нужно? *Клиническая медицина* 2012; (8): 73–5).
3. Zastrozhin MS, Agarval RK, Chibisov SM. Desynchronization as a manifestation of the norm and pathology. *Health and education in the XXI century* 2012; 14 (2): 51–4. Russian (За-

строжин М. С., Агарвал Р. К., Чибисов С. М. Десинхроноз как проявление нормы и патологии. *Здоровье и образование в XXI веке* 2012; 14 (2): 51–4).

4. Kostenko EV, Manevich TM, Razumov NA. Desynchronization as one of the most important factors in the emergence and development of cerebrovascular diseases. *Medical Care* 2013; (2): 104–16. Russian (Костенко Е. В., Маневич Т. М., Разумов Н. А. Десинхроноз как один из важнейших факторов возникновения и развития цереброваскулярных заболеваний. *Лечебное дело* 2013; (2): 104–16).

5. Anisimov VN, Vinogradova IA, Bukalev AV, et al. Light desynchronization and risk of malignant neoplasms in humans: state of the problem. *Questions of Oncology* 2013; 59 (3): 302–13. Russian (Анисимов В. Н., Виноградова И. А., Букалев А. В. и др. Световой десинхроноз и риск злокачественных новообразований у человека: состояние проблемы. *Вопросы онкологии* 2013; 59 (3): 302–13).

6. Makalish TP. Morphofunctional features of the spleen when exposed to the body of factors of different genesis *Taurian Medical and Biological Bulletin* 2013; 16 (1): 265–9. Russian (Макалиш Т. П. Морфологические особенности селезенки при воздействии на организм факторов различного генеза. *Таврический медико-биологический вестник* 2013; 16 (1): 265–9).

7. Anisimov VN, Vinogradova IA, Panchenko AV, et al. Light-at-night-induced circadian disruption, cancer and aging. *Current Aging Science* 2012; 5 (3): 170–7.

8. Khomenko VG. Melatonin as a product of the pineal gland in the regulation of physiological functions of the body. *Health and education in the XXI century* 2013; (1-4): 33–6. Russian (Хоменко В. Г. Мелатонин как продукт шишковидной железы в регуляции физиологических функций организма. *Здоровье и образование в XXI веке* 2013; (1-4): 33–6).

9. Kravtsov OA, Antipova ON, Zlobina OV, Surovtseva KA. Stress disorders of animal behavioral reactions in modeling light desynchronization. *Collection of articles of the XVIII international scientific and practical conference* 2018: 12–4. Russian (Кравцов О. А., Антипова О. Н., Злобина О. В., Суворцева К. А. Стрессорные нарушения поведенческих реакций животных при моделировании светового десинхроноза. В кн.: *Сборник статей XVIII международной научно-практической конференции* 2018: 12–4).

10. Elenkov IJ. Effects of catecholamines on the immune response. *NeuroImmune Biology* 2007; (7): 189–206.

11. Flierl MA, et al. Catecholamines — crafty weapons in the inflammatory arsenal of immune/inflammatory cells or opening Pandora's box? *Molecular medicine* 2008; 14 (3): 195–204.

12. Kaladze NN, Sobolev EM, Skoromnaya NN. Results and prospects of studying the physiological, pathogenetic and pharmacological effects of melatonin. *Theoretical Medicine* 2010; 23 (2): 156–66. Russian (Каладзе Н. Н., Соболева Е. М., Скоромная Н. Н. Итоги и перспективы изучения физиологических, патогенетических и фармакологических эффектов мелатонина. *Теоретическая медицина* 2010; 23 (2): 156–66).

13. Bulgakova OS. Immunity and various stages of stress exposure. *The successes of modern science* 2011; (4): 31–5. Russian (Булгакова О. С. Иммунитет и различные стадии стрессорного воздействия. *Успехи современного естествознания* 2011; (4): 31–5).