

20. Serum Vitamin D Levels and Vitamin D Supplement in Adult Patients with Asthma Exacerbation. / T. Boonpiyathad, T. Chantveerawong,

P. Pradubpongsa, A. Sangasapaviliya // Journal of Allergy. – 2016. - Vol.2016 — a4070635
21. Sharif A., Haddad H. Kashani, Sharif M.R.

Association of 25-hydroxy vitamin D with asthma and its severity in children: a case-control study // Clin Mol Allergy. – 2020. - № 18. – P. 7.

А.В. Герасимов, В.П. Костюченко, Е.Ю. Варакута,
С.В. Логвинов

ВЛИЯНИЕ СВЕТА НА ФОРМИРОВАНИЕ ОСМИОФИЛЬНЫХ ТЕЛЕЦ В ПИНЕАЛОЦИТАХ И КАЛЬЦИФИКАЦИЮ ШИШКОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

DOI 10.25789/YMJ.2023.81.04

УДК 611.814.53:612.4.09:616-
008.61/63

С целью верификации предположения о том, что изменения содержания осмиофильных телец (ОТ) в пинеалоцитах у крыс являются морфологическим маркером не только сдвигов секреторной активности и кальцификации шишковидной железы, реагирующей на круглосуточное освещение, но и отражают нарушения пинеального биоритма, методами световой и трансмиссионной электронной микроскопии, микрорентгеноспектрального анализа в эксперименте на крысах, подвергнутых 48-часовому воздействию яркого света, оценена численная плотность одиночных и сгруппированных ОТ, их химический состав. Сделан вывод, что сгруппированные ОТ с материалом утилизированных митохондрий и кальцификатами являются остаточным проявлением десинхрониза. Их содержание увеличивается в более ранние после воздействия сроки, чем общее содержание различных типов ОТ.

Ключевые слова: шишковидная железа, воздействие света, крысы, ультраструктура, химический состав.

In order to verify the assumption that changes in the content of osmiophilic bodies (OB) in pinealocytes in rats are a morphological marker not only of shifts in secretory activity and calcification of the pineal gland responding to round the clock lighting, but also reflect violations of pineal biorhythm, by methods of light and transmission electron microscopy, microrentgenospectral analysis in an experiment on rats, exposed to 48-hour exposure to bright light, the numerical density of single and grouped OB, their chemical composition was estimated. It is concluded that the grouped OB with the material of disposed mitochondria and calcifications are a residual manifestation of desynchronization. Their content increases at an earlier time after exposure than the total content of various types of OB.

Keywords: pineal gland, exposure to light, rats, ultrastructure, chemical composition.

Введение. В северных широтах за полярным кругом наблюдается такое явление как полярный день. В связи с активным освоением Заполярья, северного морского пути, приобретают всё большую актуальность исследования воздействия на организм круглосуточного освещения. В регуляции суточных биоритмов важная роль отводится шишковидной железе. Моделируя на белых крысах влияние круглосуточного освещения 48-часовым воздействием ярким светом, нами было показано, что у гипериллюминированных животных развивается временный десинхрониз суточной активности шишковидной железы, следствием которого являлось увеличение содержания в пинеалоцитах кальцифицированных осмиофильных телец (ОТ) [2, 3]. При проведении исследова-

ния рассматривался комплекс морфологических маркеров функциональной активности железы [7], что позволило оценить в том числе и состояние митохондриального аппарата, являющегося исключительным местом синтеза основного пинеального гормона мелатонина [10]. Удельный объём митохондрий в цитоплазме большей части крупных светлых пинеалоцитов (тип IB) значительно превосходит величину показателя, характерную для всех других типов клеток нейральной природы, в том числе гипоталамических нейроэндокринных [1]. Митохондрии в пинеалоцитах, кроме того, проявляют суточный ритм слияния-деления, подвергаются митофагии [11]. Утилизация сопровождается формированием одиночных и сгруппированных в агрегаты ОТ [4]. Сделано предположение, что утилизация повреждённых митохондрий связана с формированием ОТ, накапливающихся в мелких светлых пинеалоцитах (тип IA), тёмных (тип II) и дегенерирующих (тип III), и что образование сгруппированных ОТ является следствием нарушения суточного ритма слияния-деления митохондрий.

Цель исследования: проанализировать формирование, химический со-

став и изменения численной плотности одиночных и сгруппированных ОТ в пинеалоцитах шишковидной железы у крыс после прекращения круглосуточного освещения ярким светом.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на 80 беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 г в соответствии с правилами лабораторной практики (приказ Минздрава России от 19.06.2003 № 267). Освещённость животных в светлое время суток (с 8 до 20 ч) составляла 200 лк. Влияние круглосуточного освещения моделировали, помещая крыс на 48 ч в гипериллюминированные клетки (6 ламп ЛБ-40, освещённость 3500 лк). Опытных и контрольных животных выводили из эксперимента в 11-12 ч дня через 24 ч, 10, 30 и 180 сут после прекращения воздействия яркого света. Железу забирали после декапитации крыс под эфирным наркозом, фиксировали в 2,5%-ном глутаральдегиде на 0,2 М какодильном буфере (рН 7,4), постфиксировали в 1%-ном растворе тетраоксида осмия, обезживали в этаноле, заливали в эпон. Срезы изготавливали на ультратоме LKB-III (Швеция), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца,

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России: **ГЕРАСИМОВ Александр Владимирович** – д.м.н., доцент, проф., avgerasimov62@yandex.ru, **КОСТЮЧЕНКО Витта Петровна** – к.м.н., ст. препод., **ВАРАКУТА Елена Юрьевна** – д.м.н., зав. кафедрой, **ЛОГВИНОВ Сергей Валентинович** – д.м.н., проф., зав. кафедрой.

исследовали в трансмиссионном микроскопе JEM-100 CX II («JEOL», Япония). Для микрорентгеноспектрального анализа использовали электронный микроскоп JEM-210 («JEOL», Япония) и энергодисперсионный спектрометр «Oxford Instruments X-Max» (Великобритания). В срезах железы площадью 0,06 мм² с помощью 368-точечной тест-системы подсчитывали численную плотность ОТ. Данные обрабатывали с помощью пакета программ «Statistica for Windows», версия 7 («StatSoft Inc.», США).

Результаты и обсуждение. У крыс в пинеалоцитах типа IA, наряду с ОТ, обнаруживаются митохондрии с включениями осmioфильного материала и зёрнами кальцификатов, которые изолируются цистернами эндоплазматического ретикулума с формированием аутофаголизосом. Аутофаголизосомы, заполненные аморфным осmioфильным материалом, содержат ламеллярные структуры, зёрна кальцификатов, липиды. Не так часто в аутофаголизосомах наблюдается полное переваривание утилизируемого материала, а также присутствие кальцифицированного ламеллярного материала в межклеточном пространстве. В светлое время суток, когда в зоне неактивного комплекса Гольджи светлых пинеалоцитов у контрольных животных выявляются преимущественно мелкие митохондрии, некоторые из них, благодаря складкам наружной митохондриальной мембраны, могут взаимодействовать друг с другом и с ОТ, превращаясь в осmioфильные чёткообразные структуры (рис. 1).

В большем количестве сгруппированные и одиночные ОТ (размером до 7,5 мкм) обнаруживаются у контрольных и опытных животных в пинеалоцитах типа II и III, а также в апоптотических тельцах. ОТ участвуют в генезе конкрементов, что согласуется с данными других авторов и рассматривается как физиологический процесс, а сама кальцификация содержимого ОТ (аморфный её тип) – как отражение старения и/или дегенеративного состояния шишковидной железы [5, 6, 9]. Лишь иногда на месте гибели пинеалоцитов у крыс организуются кристаллы размером 1,2×0,2 мкм и розетки кристаллов (рис. 2).

По соотношению кальция и фосфора кристаллы близки к гидроксиапатиту [8]. Кальцием, фосфором, серой богаты не только ОТ, утилизирующие митохондрии, но и сами способные к синтезу мелатонина органеллы, депо-

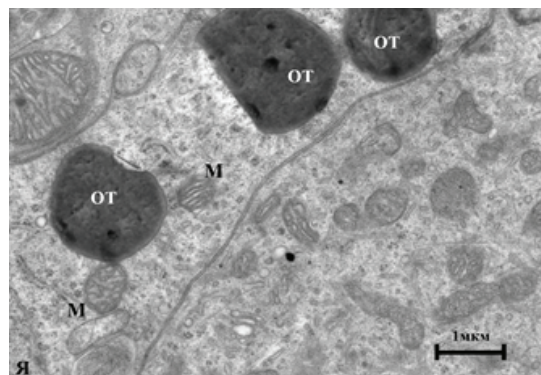


Рис. 1. Объединение в группы мелких митохондрий (М) и ОТ (Я – ядро пинеалоцита)

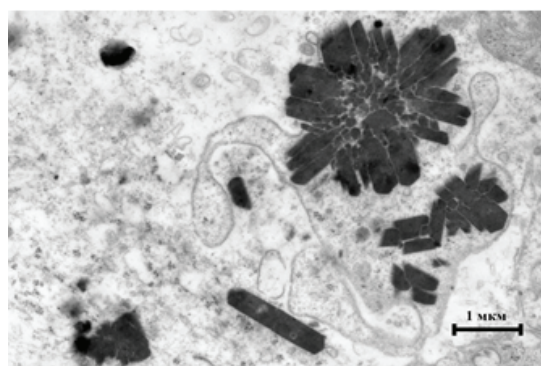


Рис. 2. Кристаллы на месте гибели пинеалоцита

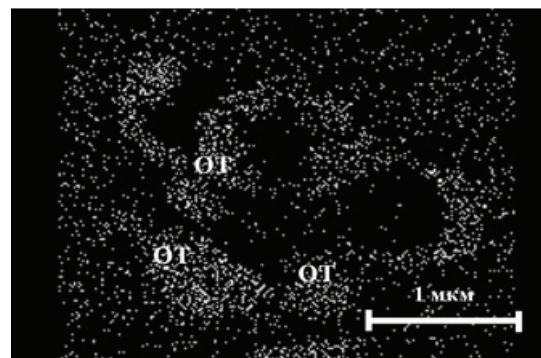


Рис. 3. Распределение фосфора в части цитоплазмы пинеалоцита, по данным дисперсионного микрорентгеноспектрального анализа

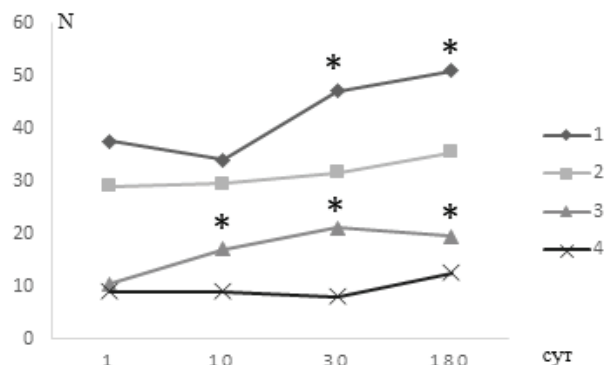


Рис. 4. Изменения численной плотности (N) осmioфильных телец (ОТ) в цитоплазме пинеалоцитов у крыс после воздействия света: 1 – общая N в опыте, 2 – общая N в контроле, 3 – N сгруппированных ОТ в опыте, 4 – N сгруппированных ОТ в контроле, * значимые различия с контролем.

нирующие, кроме того, Ca^{2+} , участвующие в окислении и фосфорилировании, содержащие вещества, в состав которых входит цистеин, например, глутатион (рис. 3).

После прекращения круглосуточного освещения численная плотность сгруппированных ОТ в цитоплазме пинеалоцитов увеличивается и превосходит контроль на 10-е–180-е сут. Увеличение общей численной плотности ОТ отмечается на 30-е–180-е сут (рис. 4). Поскольку у гипер-иллюминированных крыс развивался десинхронизм с угнетением, а затем инверсией суточного ритма активности шишковидной железы [2], можно предположить, что накапливающийся в мелких митохондриях с заторможенной активностью IB пинеалоцитов осмиофильный материал и кальцификаты активизируют утилизацию органелл с подобными изменениями. Формируются ОТ, клетки типа IB приобретают морфологические признаки клеток типа IA, осложняется слияние мелких митохондрий в крупные, синтезирующие мелатонин. Мелкие митохондрии без признаков осмиофилии и с осмиофильным материалом чаще объединяются после прекращения воздействия в чёткообразные структуры, нередко в комплексе с ОТ, поэтому через 24 ч в фазу инверсии суточного ритма значимого увеличения удельного объёма в цитоплазме пинеалоцитов митохондрий у гипериллюминированных крыс не наблюдается [3]. В крупных митохондриях отмечается не только просветление матрикса, но и отложение осмиофильного материала. Удельный объём митохондрий в пинеалоцитах у крыс возрастает через 10 сут после прекращения воздействия светом на пике развития адаптационно-приспособительной реакции на стресс [3], что, очевидно, активизирует митофа-

гию, утилизацию крупных митохондрий с признаками повреждений по «тёмному» типу с формированием одиночных ОТ. Этим можно объяснить более раннее увеличение численной плотности сгруппированных ОТ по сравнению с увеличением общей численной плотности ОТ.

Заключение. Таким образом, особенность морфофункциональной организации шишковидной железы, связанная с местом синтеза основного пинеального гормона мелатонина в митохондриях пинеалоцитов, обуславливает частое с суточной периодичностью их слияние, значительный удельный объём в цитоплазме, широкое распространение явления кальцификации и осмиофилии митохондриального матрикса, утилизации в составе ОТ, на месте которых организуются кристаллы гидроксиапатита или конкреции аморфного типа. Нарушение суточного ритма слияния-деления митохондрий увеличивает содержание в пинеалоцитах сгруппированных ОТ, что может рассматриваться как остаточное проявление десинхронизма при адаптации к круглосуточному освещению.

Литература

1. Герасимов А.В. Функциональная морфология нейронов супрахиазматических ядер гипоталамуса крыс после комбинированного воздействия рентгеновского излучения и света // Радиационная биология. Радиэкология. 2003. Т. 43, № 4. С. 389-395.
2. Герасимов А.В. The functional morphology of suprachiasmatic nuclei neurons of rat hypothalamus after combined influence of X-irradiation and light exposure // Radiation biology. Radio-ecology. 2003. Vol. 43, No 4. P. 389-395.
3. Логвинов С. В., Герасимов А.В., Костюченко В.П. Морфология эпифиза при воздействии света и радиации в эксперименте // Бюл. сибирской медицины. 2003. Т. 2, № 3. С. 36-41.
4. Логвинов С.В., Герасимов А.В., Костюченко В.П. Эпифиз морфология при воздействии света и радиации в эксперименте // Бюл. сибирской медицины. 2003. Т. 2, № 3. С. 36-41.

ko V.P. Epiphysis morphology under light and radiation exposure in experiment // Bulletin of Siberian Medicine. 2003. T. 2, No. 3. С. 36-41. DOI: org/10.20538/1682-0363-2003-3-36-43

3. Логвинов С.В., Герасимов А.В., Костюченко В.П. Ультраструктура пинеалоцитов у крыс при воздействии света и радиации // Морфология. 2004. Т. 125, № 1. С. 71-75.

Logvinov S.V., Gerasimov A.V., Kostyuchenko V.P. Pinealocyte ultrastructure in rats exposed to light and radiation // Morphology. 2004. T. 125, No. 1. С. 71-75.

4. Ультраструктурные особенности пинеалоцитов шишковидной железы грызунов в возрастном аспекте / А.В. Герасимов, В.П. Костюченко, С.В. Логвинов [и др.] // Фундаментальные исследования. 2013. № 12, ч. 3. С. 449-452.

Ultrastructural special features of pinealocytes of the pineal gland of rodents in the aspect de-pendent on age / A.V. Gerasimov, V.P. Kostyuchenko, S.V. Logvinov [et al.] // Fundamental research. 2013. No. 12, P. 3. P. 449-452. URL: <https://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=33426>

5. Humbert W., Pévet P. Calcium content and concretions of pineal glands of young and old rats. A scanning and X-ray microanalytical study // Cell Tissue Res. 1991. Vol. 263, No. 3. P. 593-596. DOI: 10.1007/BF00327294.

6. Humbert W., Pévet P. Calcium concretions in the pineal gland of aged rats: an ultrastructural and microanalytical study of their biogenesis // Ibid. 1995. Vol. 279, No. 3. P. 565-573. DOI: 10.1007/BF00318168.

7. Karasek M., Reiter R.J. Morphofunctional aspects of the mammalian pineal gland // Microsc. Res. Tech. 1992. Vol. 21. P.136-157. DOI: 10.1002/jemt. 1070210206.

8. Kodaka T., Mori R., Debari K., Yamada M. Scanning electron microscopy and electron probe microanalysis studies of human pineal concretions // Microscopy. 1994. No. 43. P. 307-317.

9. Krstić R. Pineal calcification: Its mechanism and significance // J. Neural Transm. Suppl. 1986. No. 21. P. 415-432.

10. Suofu Y. Dual role of mitochondria in producing melatonin and driving GPCR signaling to block cytochrome c release / Y. Suofu, W. Li, F. Jean-Alphonse [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2017. Vol. 114. P. 7997-8006. DOI: 10.1073/pnas. 1705768114.

11. Tan D.-X., Manchester L.C., Qin L., Reiter R.J. Melatonin: A mitochondrial targeting molecule involving mitochondrial protection and dynamics // Int. J. Mol. Sci. 2016. No. 17. P. 2124. DOI: 10.3390/ijms17122124.