

и патентообладатель : Круглов С.В., Амелин В.Г., Ларионов Н.П.; подано 27.02.2000. – Опубл. 27.12.2000. – Бюл. № 2000. – 36 с.

Reducer of nitrates: patent 2161303 Russian Federation MPK G01N31 / 22, G01N27 / 00, G01N21 / 00, B01F3 / 00 / applicant and patentee: S.V. Kruglov, V.G. Amelin, N.P. Larionov; filed 27.02.2000. – Publ. 12/27/2000. – Bul. №2000. – 36 p.

5. Способ получения средства, обладающего адаптогенным действием: патент 2582952 Российская Федерация / Д.Н. Оленников, Г.В. Чехирова, Л.М. Танхаева [и др.]; заявитель и патентообладатель ИО и ЭБ СО РАН. – Опубл. 27.04.2016. – Бюл. № 12.

A method of obtaining an agent with an adaptogenic effect: patent 2582952 Russian Federation / D.N. Olennikov, G.V. Chehrova, L.M. Tankhaeva [et al.]; applicant and patentee of IO and EB SB RAS. – Publ. 04/27/2016. – Bul. №12.

6. Чичёва М.М. Белок теплового шока HSP70 модулирует нейродегенеративный процесс в трансгенной модели протеинопатии / М.М. Чичева // Russian Scientist. – 2018. – №2 (1). – С.3-12.

Chicheva M.M. Heat shock protein HSP70 modulates the neurodegenerative process in the transgenic model of proteinopathy / M.M. Chicheva // Russian Scientist. – 2018. – №2 (1). – P.3-12.

7. Asea A. Evaluation of molecular chaperones Hsp 72 and neuropeptide Y as characteristic markers of adaptogenic activity of plant extracts / A. Asea, P. Kaur, A. Panossian, K.G. Wikman // Phytomed. – 2013. – Vol. 20. – P. 1323-1329.

8. Leak R.K. Heat shock proteins in neurodegenerative disorders and aging / R.K. Leak // J. Cell. Commun. Signal. – 2014. – № 8(4). – P. 293-310.

9. Liu P. Anti-Aging Implications of Astragalus Membranaceus (Huangqi): A Well-Known

Chinese Tonic/ P. Liu, H. Zhao, Y. Luo //Aging Dis. – 2017. – №8. – P. 868–886. doi: 10.14336/AD.2017.0816.

10. Panossian A. Effects of adaptogens on the central nervous system and the molecular mechanisms associated with their stress-protective activity / A. Panossian, G. Wikman // Pharmaceuticals – 2010. – № 3. – P. 188-224.

11. Panossian A. Understanding adaptogenic activity: specificity of the pharmacological action of adaptogens and other phytochemicals / A. Panossian //Annals of the New York Academy of Sciences. –2017. – № 1401 (1). – P. 49-64.

12. Systematic Review of Phytochemistry, Pharmacology and Pharmacokinetics on Astragali Radix: Implications for Astragali Radix as a Personalized Medicine / G.Zhenzhen, L.Yanmei, K. Muyan [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2019. – Vol. 20(6). – P. 1463. doi: 10.3390/ijms 20061463

А.В. Герасимов, Д.К. Гармаева, С.А. Фёдорова,
В.П. Костюченко, А.В. Потапов, Е.Ю. Варакута,
А.А. Денисов, С.В. Логвинов

ИНФРАДИАННЫЙ РИТМ СЕКРЕТОРНОЙ АКТИВНОСТИ И КАЛЬЦИФИКАЦИЯ ШИШКОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

DOI 10.25789/YMJ.2020.71.04

УДК 611.814.53:612.4.09

С целью верификации предположения о лунафазной секреторной активности и кальцификации шишковидной железы методами электронной микроскопии исследована динамика отложения мозгового песка и изменения митохондрий в пинеалоцитах у крыс. Сделан вывод о преимущественно мелкодисперсном характере распределения кальцификатов в пинеалоцитах и соединительнотканной строме органа, увеличении их содержания в последнюю четверть синодического месяца после лунафазного сдвига функционального состояния шишковидной железы в сторону более низкой секреторной активности.

Ключевые слова: шишковидная железа, крысы, ультраструктура, кальцификация, инфрадианный ритм.

In order to verify the assumption of lunaphase secretory activity and pineal gland calcification, the dynamics of brain sand deposition and changes of mitochondria in pinealocytes in rats were studied using electron microscopy. It is concluded that the distribution of calcifications in pinealocytes and connective tissue stroma of the organ is mainly fine-dispersed, and their content increases in the last quarter of the synodic month after the lunaphase shift in the functional state of the pineal gland towards lower secretory activity.

Keywords: pineal gland, rats, ultrastructure, calcification, infradian rhythm.

Введение. У животных в суровых условиях выживания на Крайнем Севере шишковидная железа отличается крупными размерами [8]. Благодаря секреции пинеального гормона мелатонина, у них поддерживается

нормальное функционирование генов суточных часов в пейсмекерных нейронах супрахиазматических ядер гипоталамуса [9]. Проявляет активность гипоталамо-спинально-ганглионарно-пинеальное звено мелатониновой «петли». Организм адаптируется к длительному отсутствию ретино-гипоталамической фотостимуляции, воздействию низкой температуры, других неблагоприятных факторов окружающей среды. Однако секреция мелатонина способствует кальцификации шишковидной железы, что осложняет её функционирование [7]. Отсутствие фотостимуляции при двусторонней энуклеации в эксперименте на песчанках сопровождалось не только усилением выработки мелатонина, но и более выраженной кальцификацией шишковидной железы, тогда как после ганглиозектомии верхних шейных авто-

номных узлов кальцификация вообще не проявлялась [10]. При длительном освещении крыс (45, 90 сут) наблюдались морфологические признаки гипофункции шишковидной железы с уменьшением удельного объема митохондрий в цитоплазме пинеалоцитов [4]. Митохондрии являются исключительным местом синтеза суточного хронобиотика мелатонина. В пинеалоцитах при активизации деятельности железы мелатонин стимулирует слияние митохондрий и подавляет деление (митофагию) [3]. Кроме суточных биоритмов в шишковидной железе проявляются морфологические признаки лунафазной активности [1, 5, 6]. Изменения митохондрий в пинеалоцитах в различные фазы синодического месяца (29,5 сут), инфрадианный ритм кальцификации шишковидной железы остаются неизученными.

ФГБОУ ВО «Сибирский ГМУ» МЗ России (г. Томск): **ГЕРАСИМОВ Александр Владимирович** – д.м.н., доцент, проф. кафедры, a_gerasimov@sibmail.com, **КОСТЮЧЕНКО Витта Петровна** – к.м.н., ст. препод., **ПОТАПОВ Алексей Валерьевич** – д.м.н., проф., **ВАРАКУТА Елена Юрьевна** – д.м.н., зав. кафедрой, **ДЕНИСОВ Андрей Александрович** – д.м.н., доцент, проф. кафедры, **ЛОГВИНОВ Сергей Валентинович** – д.м.н., проф., зав. кафедрой; СВФУ им. М.К. Аммосова: **ГАРМАЕВА Дарима Кышектовна** – д.м.н., проф., зав. кафедрой, **ФЕДОРОВА Сардана Аркадьевна** – д.б.н., гл.н.с.; зав. НИЛ молекулярной биологии Института естественных наук, с.н.с. ЯНЦ КМП

Цель исследования – проанализировать лунафазные изменения митохондрий в пинеалоцитах и явления кальцификации шишковидной железы у крыс.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на 150 крысах Вистар в соответствии с правилами лабораторной практики (приказ Минздрава России от 19.06.2003 № 267). Для исключения различий, связанных со стрессом на перенаселение, возрастом, полом, сезоном года и временем суток, самцов массой 180–200 г в течение 29 сут содержали в клетках по 5 особей при постоянной суточной фотофазе и ежедневно в 16 ч, когда активность шишковидной железы достигала минимума, выводили из эксперимента [2]. Железу забирали после декапитации под эфирным наркозом, фиксировали в смеси 4% параформальдегида и 2,5% глутаральдегида на 0,1М какодильном буфере (pH 7,4), постфиксировали в 1%-ном растворе тетраоксида осмия, обезвоживали в этаноле и ацетоне, заключали в смесь смол эпон–аралдит. Срезы изготавливали на ультратоме «Leica EM UC7» (Австрия), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, исследовали в трансмиссионном микроскопе «JEM-100 CX II» (JEOL, Япония). На электронограммах 15×22,5 см с помощью 368-точечной тест-системы подсчитывали удельный объём митохондрий в цитоплазме пинеалоцитов. Данные обрабатывали с помощью пакета программ «Statistica for Windows», версия 7 (StatSoft Inc., США).

Результаты и обсуждение. У крыс гормонпродуцирующие клетки шишковидной железы условно можно подразделить на четыре типа. Тип IA – светлые пинеалоциты с развитой гранулярной эндоплазматической сетью (ГЭС), которые содержат в цитоплазме не только митохондрии, комплекс Гольджи, секреторные гранулы, синаптические ленты, полисомы, но

и осмиофильные тельца с мозговым песком. Тип IB – самые крупные и численно преобладающие светлые пинеалоциты, богатые митохондриями, с комплексом Гольджи, полисомами, единичными цистернами ГЭС, секреторными гранулами и синаптическими лентами. Тип II – тёмные мелкие пинеалоциты с более электронно-плотным матриксом цитоплазмы, чем у светлых клеток, множеством полисом, немногочисленными митохондриями, без секреторных гранул и синаптических лент в цитоплазме – признаков секреторной активности (в состоянии покоя). Тип III – дегенерирующие пинеалоциты.

Удельный объём митохондрий в цитоплазме клеток IB больше в 1,9–3 раза, чем в клетках IA, и в 1,6–1,9 раза, чем в клетках типа II, что позволяет рассматривать клетки IB как главные пинеалоциты, вырабатывающие мелатонин [3]. В клетках типа IA в первую четверть синодического месяца удельный объём митохондрий снижается по сравнению с новолунием в 1,2 раза, в полнолуние по сравнению с предшествующей фазой – возрастает в 1,3 раза и сохраняется на высоком уровне вплоть до новолуния. В новолуние в теле клеток IA осмиофильных телец больше, чем в полнолуние, в отростках – меньше. Внутриклеточный транспорт является энергоёмким процессом, и митохондрии в клетках IA не только участвуют в выработке мелатонина, но и обеспечивают энергией, по-видимому, транспорт осмиофильных телец с мозговым песком. В полнолуние удельный объём митохондрий в клетках IB в 1,1 раза меньше, чем в новолуние, что соответствует ранее опубликованным данным о лунафазных сдвигах функциональной активности шишковидной железы у крыс и мышей [1, 5, 6]. Уменьшение удельного объёма митохондрий в пинеалоцитах IB в первую четверть синодического месяца после завер-

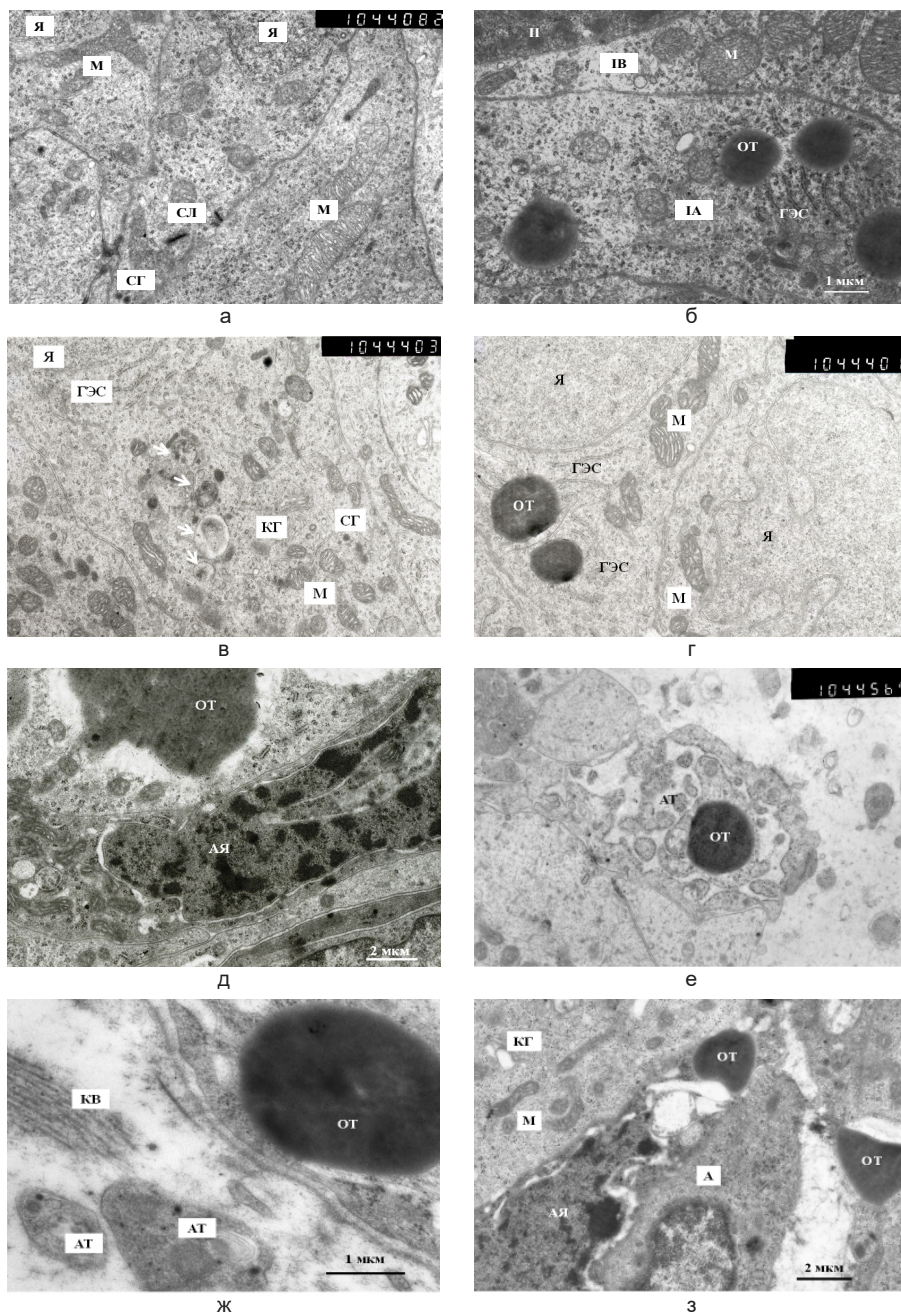
шения фазы активного функционирования, возможно, связано с деструкцией части органелл, участвовавших в синтезе мелатонина. В полнолуние снижается не только секреторная активность шишковидной железы, но и, очевидно, активность внутриклеточных процессов в пинеалоцитах, не принимающих участия в секреции мелатонина и транспортировке осмиофильных телец, поскольку именно в эту фазу достигает минимума удельный объём митохондрий в цитоплазме клеток типа II (таблица).

В новолуние в главных гормонпродуцирующих клетках митохондрии не только увеличиваются в размерах, но и приобретают спиралевидную и разветвлённую Т-образную форму (рисунок, а, б). В следующую фазу синодического месяца митохондрии уменьшаются в размерах, митохондриальный матрикс уплотняется, отдельные органеллы подвергаются кальцификации, претерпевают деструктивные изменения и при участии лизосом превращаются в тельца с осмиофильным матриксом и мелкодисперсными включениями кальцификатов (мозговым песком), характерные для клеток IA (рисунок, в). В полнолуние в части IB клеток с явлениями митофагии оболочка ядра становится складчатой (рисунок, г). Проявляются морфологические признаки запрограммированной гибели пинеалоцитов (рисунок, д). Апоптотические тельца чаще обнаруживаются в последнюю четверть синодического месяца, причём мелкие зёрна кальцификатов из осмиофильных телец и фрагментов цитоплазмы на месте гибели пинеалоцитов попадают в межклеточное пространство и связываются с коллагеновыми волокнами стромы (рисунок, е, ж). Утилизация погибших пинеалоцитов (пинеалоцитофагия) осуществляется, по-видимому, при участии астроцитов также преимущественно в фазу убывающей Луны (рисунок, з).

Лунафазные изменения удельного объёма митохондрий в цитоплазме различных типов пинеалоцитов у крыс в течение синодического месяца, Ме (Q_1 – Q_3)

Фаза (сут)	Тип IA	Тип IB	Тип II
Новолуние (1–7)	6,15° (5,57–7,04)	14,41° (13,84–15,098)	8,81 (7,21–9,32)
Первая четверть (8–15)	5,25*° (4,31–6,08)	15,62° (14,58–16,78)	8,27 (7,12–8,96)
Полнолуние (16–22)	6,82° (6,11–7,24)	12,96*° (11,46–15,02)	7,53* (5,81–8,35)
Последняя четверть (23–29)	6,33° (5,56–6,72)	13,64° (12,20–14,56)	8,48 (7,25–9,86)

Примечание. * – значимые различия с новолунием, ° – с типом II в каждую фазу цикла.



Лунафазные изменения ультраструктуры шишковидной железы у крыс: а-б – новолуние, в – фаза растущей Луны (первая четверть), г-д – полнолуние, е-з – фаза убывающей Луны (последняя четверть), А – астроцит, АЯ – апоптотическое ядро, АТ – апоптотические тельца, ГЭС – гранулярная эндоплазматическая сеть, КВ – коллагеновые волокна, КГ – комплекс Гольджи, М – митохондрии, ОТ – осмиофильные тельца с песчинками кальцификатов, СЛ – синаптические ленты, СГ – секреторные гранулы, Я – ядра пинеалоцитов, IА, IВ и II – типы пинеалоцитов, стрелки – формирующиеся осмиофильные тельца. Увеличение: а – е, з – 10000, ж – 30000

Заключение. Таким образом, у молодых половозрелых крыс кальцификация шишковидной железы проявляется в виде мелкодисперсных отложений мозгового песка в митохондриях и осмиофильных тельцах функционирующих и дегенерирующих пинеалоци-

тов, апоптотических тельцах на месте их гибели и коллагеновых волокнах стромы органа. Кальцификация является следствием лунафазных изменений митохондрий в пинеалоцитах и секреторной активности шишковидной железы. Внутриклеточная кальцифи-

кация пинеалоцитов становится более выраженной в первую четверть синодического месяца после фазы более активного функционирования в новолуние. В фазу угнетения секреторной активности в полнолуние и в последнюю четверть лунного цикла на фоне запрограммированной гибели части пинеалоцитов кальцификаты высвобождаются и откладываются в соединительной ткани.

Литература

1. Морфологические маркёры лунафазных изменений органов у крыс / А.В. Герасимов, В.П. Костюченко, Д.К. Гармаева, С.А. Фёдорова // Якутский медицинский журнал. – 2014. – № 1. – С. 13–16.
2. Morphological markers for lunaphase changes of organs in rats / A.V. Gerasimov, V.P. Kostyuchenko, D.K. Garmayeva, S.A. Fedorova // Yakutskiy medicinskij zhurnal (Yakut medical journal). – 2014. – № 1. – P. 13–16.
3. Diurnal rhythms of pinealocyte ultrastructure, pineal serotonin content and plasma melatonin level in the domestic pig / B. Lewczuk, M. Nowicki, M. Prusik [et al.] // Folia Histochem. Cytobiol. – 2004. – Vol. 42, № 3. – P.155–163.
4. 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.
5. Gerasimov A.V. Morphological changes in the pineal gland of rats under conditions of long-term exposure to bright light / A.V. Gerasimov, V.P. Kostyuchenko, S.V. Logvinov // Bul. Exp. Biol. Med. – 2010. – Vol. 150, № 7. – P. 86–88. DOI: org/10.1007/s10517-010-1076-z.
6. Pineal gland as an endocrine gravitation lunasensor: manifestation of moon-phase dependent morphological changes in mice / A.V. Gerasimov, V.P. Kostyuchenko, A.S. Solovieva, A.M. Olovnikov // Biochemistry (Moscow). – 2014. – Vol. 79, № 10. – P. 1064–1074. DOI: org/10.1134/S0006297914100083.
7. Infradian rhythm of the content of secretory granules in pinealocyte cytoplasm in mice and rats / A.V. Gerasimov, V.P. Kostyuchenko, A.V. Potapov [et al.] // Bul. Exp. Biol. Med. – 2018. – Vol. 165, № 2. – P. 276–279. DOI: org/10.1007/s10517-018-4147-1.
8. Pineal calcification, melatonin production, aging, associated health consequences and rejuvenation of the pineal gland / D. Tan, B. Xu, Xi. Zhou, R. Reiter // Molecules. – 2018. – Vol. 23, № 2. – P. 301. DOI: org/10.3390.
9. Ralph C. The pineal gland and geographical distribution of animals / C. Ralph // Int. J. Biometeorol. – 1975. – Vol. 19. – P. 289–303. DOI: 10.1007/BF01451040.
10. Waly N. Circadian pattern of melatonin MT1 and MT2 receptor localization in the rat suprachiasmatic nucleus / N. Waly, R. Hallworth // J. Circadian Rhythms. – 2015. – Vol. 13. – P. 1–7. DOI: 10.5334/jcr.ab.
11. Welsh M. Effects of superior cervical ganglionectomy, constant light and blinding on the gerbil pineal gland: an ultrastructural analysis / M. Welsh // (Abstract) Anat. Rec. – 1977. – Vol. 187. – P. 746.