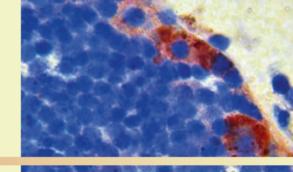
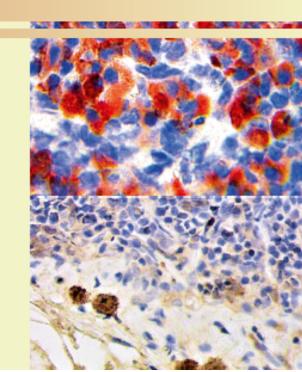
Е.М. Лузикова О.А. Шатских В.Е. Сергеева



АДАПТОГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ МЕЛАТОНИНА НА ЛИМФОИДНЫЕ ОРГАНЫ В УСЛОВИЯХ РАЗНЫХ СВЕТОВЫХ РЕЖИМОВ



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕЛЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова»

Е.М. Лузикова О.А. Шатских В.Е. Сергеева

АДАПТОГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ МЕЛАТОНИНА НА ЛИМФОИДНЫЕ ОРГАНЫ В УСЛОВИЯХ РАЗНЫХ СВЕТОВЫХ РЕЖИМОВ

УДК [591.147.5:591.14]:535 ББК Е 60*732.381.81-634 Л83

Рецензенты:

Д.А. Дмитриев – д-р мед. наук, профессор кафедры биологии и основ медицинских знаний ФГБОУ ВО «Чувашский государственный педагогический университет им. И.Я. Яковлева»; В.В. Алексеев – д-р биол. наук, профессор кафедры биоэкологии и химии, декан факультета естественнонаучного образования ФГБОУ ВО «Чувашский государственный педагогический университет им. И.Я. Яковлева»

Научный редактор: д-р мед. наук, профессор В.Н. Диомидова

Печатается по решению Ученого совета Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова

Лузикова Е.М.

Л83 Адаптогенное действие мелатонина на лимфоидные органы в условиях разных световых режимов / Е.М. Лузикова, О.А. Шатских, В.Е. Сергеева. — Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2019. — 160 с.

ISBN 978-5-7677-3010-0

Представлены новые данные о регулирующем действии мелатонина на стромальные клетки и лимфоциты тимуса и селезёнки, а также сведения о влиянии мелатонина на физиологическую инволюцию лимфоидных органов.

Для научных работников, практикующих врачей-иммунологов и терапевтов, преподавателей медицинских и фармацевтических факультетов, а также студентов III–VI курсов и аспирантов.

ISBN 978-5-7677-3010-0

УДК [591.147.5:591.14]:535 ББК Е 60*732.381.81-634 © Издательство Чувашского университета, 2019 © Лузикова Е.М., Шатских О.А., Сергеева В.Е., 2019

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АПК – антигенпредставляющие клетки

БА – биогенные амины

 Γ – гистамин

ДК – дендритные клетки

ДОФА – 3,4-дигидроксифенилаланин

ДЭС – диффузная эндокринная система

КА – катехоламины

КВ – корковое вещество

КЗ – краевая зона лимфоидного узелка

КМЗ – кортико-медуллярная зона

ЛГК – люминесцирующие гранулярные клетки

ЛГК КМЗ – ЛГК кортико-медуллярной зоны долек

ЛГК КВ – ЛГК коркового вещества

МЗ – мантийная зона лимфоидного узелка

МС – маргинальный синус

МПЗ – макрофаги премедуллярной зоны

МСЗ – макрофаги субкапсулярной зоны

ПАЛМ – периартериолярная лимфоидная муфта

ПКП – субкапсулярная область красной пульпы

СТ – серотонин (5-окситриптамин)

ТК – тучные клетки

ТКВ – тимоциты коркового вещества

ТМВ – тимоциты мозгового вещества

APUD-система (Amine Precursor Uptake and Decarboxylation) – клеточная система поглощения и декарбоксилирования предшественников биоаминов

CD (cell differentiation an tigens или cluster of definition) – кластер дифференцировки

Iba 1 (Calmodulin, Phosphate Acceptor Peptides) – кальцийсвязывающий белок кальмодулин

MHC (major histocompatibility complex) – главный комплекс гистосовместимости

МНС II – главный комплекс гистосовместимости 2-го класса

NSE – нейроспецифическая сполаза

Bcl 2 — регулятор клеточной смерти (англ. Apoptosis regulator Bcl 2)

ВВЕДЕНИЕ

Ключевым направлением хронобиологии и хрономедицины является изучение регуляторных эффектов гормона мелатонина. При этом роль экстрапинеального мелатонина изучена недостаточно. Секретируясь клетками диффузной нейроэндокринной системы (сетчатка, мозжечок, слизистая ЖКТ, печень, почки, щитовидная железа, плацента, тимус) и неэндокринными клетками (ТК, NK, лейкоциты, тромбоциты, эндотелиоциты), мелатонин обладает широким спектром биологической активности.

Исследование влияния световых режимов на функционирование иммунной системы является чрезвычайно актуальным. Человек создал ноосферу, в которой многие древние биологические механизмы нарушаются, например естественная смена дня и ночи. Круглосуточное освещение, ночные дежурства, клубный образ жизни — все это приводит к изменениям на клеточном уровне (Arushanian E.B., Beĭer E.V., 2012).

Мелатонин – нейропептид, нейротрансмиттер, участвующий в синхронизации циркадных ритмов, оказывающий онко-(Арушанян протекторное Э.Б., 2012), геропротекторное (Baeza I., 2009), иммуностимулирующее (Guo Q., Wang Z. et al., 2016; Gupta S., 2014; Goswami S., 2014; Ozkanlar S., 2015), антиоксидантное (Беспятых А.Ю., 2019), нормализующее метаболизм (Hardeland R., 2011 Cardinali D.P., Hardeland R., 2017) и радиозащитное действие (Кита А., 2015). Экстрапинеальный мелатонин играет ключевую роль в координации клеточных функций и межклеточных связей в норме и патологии (Ozkanlar S., 2015). Исследование влияния мелатонина на показатели клеточного иммунитета при непрерывном освещении (Литвиненко Г.И., Шурлыгина А.В., 2015) позволяют предположить, что фотопериод играет ключевую роль в направлении и интенсивности воздействия мелатонина на иммунные органы.

В настоящей работе рассмотрены адаптационное влияние фотопериода на иммунокомпетентные клетки тимуса и селезёнки и его роль в реализации эффектов экзогенного мелатонина.

Глава 1. ИСТОРИЯ ВОПРОСА

1.1. Иммуномодулирующее действие мелатонина

В последнее десятилетие в научной литературе большое внимание уделяется вопросам взаимодействия мелатонина и иммунной системы (Maestroni G.J., 2001; Guerrero J.M. et al., 2002; Guo Q., Wang Z. et al., 2016; Esquifino A.I. et al., 2004; Shandra O.O., 2014; Yadav S.K., Haldar C., 2014). Мелатонин оказывает двойственное иммунную влияние на систему (Arushanyan E.B., Beier E.V., 2002). Гормон может как угнетать, так и стимулировать её. Так, повторное введение низких доз гормона восстанавливает нарушенную продукцию антител и противовирусную защиту. Эпифизэктомия усиливает иммунологический дефект стрессорного происхождения. В условиях исходной гиперреактивности иммунной системы гормон тормозит выработку ряда цитокинов, подавляет активированные макрофаги и Т-хелперы. Ввиду этого речь идет об иммуномодулирующей роли мелатонина (Беспятых А.Ю. и др., 2009; Carrilo-Vico A. et al., 2013; Lin G-J. et al., 2013).

Воздействие на мелатониновые рецепторы МТ1, МТ2, МТ3 и функцию клеток лимфоидных органов и крови является основой иммуномодуляции (Barjavel M.J. et al., 1998), опосредованное воздействие — через опиоидные механизмы, а также модификацию продукции кортикостероидных гормонов надпочечников (Беспятых А.Ю. и др., 2009). Мелатониновые рецепторы обнаружены на лимфоцитах (Calvo J.R. et al., 1995), моноцитах (Garcia-Maurino S. et al., 2000) и нейтрофилах человека, на лимфоцитах и иммунокомпетентных клетках тимуса и селезёнки лабораторных и диких животных (Raffi-El-Idrissi M. et al., 1995) и Т-хелперах костного мозга крыс (Maestroni G.J. et al., 1994; 1995).

В лимфоидных органах мышей MT_1 и MT_2 -рецепторы обнаружены только в тимусе, также MT_1 -рецепторы выявляются на гранулоцитах. MT_3 -рецепторы идентифицируются в тимусе, селезёнке, костном мозге, лимфатических узлах, макрофагах, дендритных клетках, гранулоцитах. В селезёнке кур обнаружи-

ваются рецепторы к мелатонину 1-го типа: MT_1a и MT_1 с в красной пульпе, MT_{1b} – периартериолярных лимфоидных муфтах (Guo Q. et al., 2017).

Мелатонин оказывает влияние на неспецифическую иммунную защиту человека: моноциты-макрофаги, дендритные клетки, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, тучные клетки и естественные киллеры (Guerrero J.M. et al., 2002; Calvo J.R. et al., 2013).

Гормон мелатонин взаимодействует с клетками моноцитарно-макрофагального ряда и стимулирует деление клетокпредшественниц гранулоцитов и макрофагов КОЕ-ГМ (Maestroni G.J. et al., 1994, 1996, 1998; Pacini N., Borziani F., 2009). Действие мелатонина на деление моноцитов может быть опосредовано через мелатониновые рецепторы или за счет увеличения чувствительности моноцитов к стимуляторам, таким как IL-3, IL-4, IL-6, или к КОЕ-ГМ (Maestroni G.J. et al., 1994; Currier N.L. et al., 2000). В исследованиях на грызунах было выявлено повышение активности моноцитов/макрофагов при введении мелатонина (Kaur C., Ling E.A., 1999).

У животных с удаленным эпифизом наблюдается снижение общего количества лейкоцитов (Rai S., Haldar C., 2003). Экзогенный мелатонин увеличивает количество натуральных киллеров и клеток макрофагального ряда как в костном мозге, так и в селезёнке через 7 и 14 дней после введения (Currier N.L. et al., 2000).

В настоящее время мелатонин обнаружен не только в шишковидной железе, но и в экстрапинеальных тканях и в нейроэндокринных клетках, таких как тучные клетки (Кветной И.М., 2002).

Мелатонин способствует накоплению тканевых тучных клеток, предотвращая разрушение лимфоидных органов при диабетическом процессе (Ozkanlar S., Kara A., 2016; Hardwick J.M., Soane L., 2013).

Хроническое введение мелатонина увеличивает количество циркулирующих NK-клеток и их спонтанную активность, что частично опосредовано увеличением продукции цитокинов (IL-2,

IL-6, IL-12 и γ -IFN) Т-хелперами под действием гормона (Lissoni P. et al., 2003; Garcia-Maurino S. et al., 1997; Garcia-Maurino S. et al., 1999; Currier N.L. et al., 2000). Мелатонин способен индуцировать цитотоксичность человеческих моноцитов, секрецию IL-1. Мелатонин активирует моноциты через протеинкиназу С (Моггеу К.М. et al., 1994). Повторная стимуляция Т-хелперов в присутствии IL-12 приводит к дифференцировке их в Th-1 клетках, которые вырабатывают IL-2 и γ -IFN, что особенно эффективно в иммунных реакциях с участием макрофагов и других фагоцитов. Мелатонин увеличивает продукцию γ -IFN Th-1 клетками (Garcia-Maurino S. et al., 1999), а непосредственно сам γ -IFN стимулирует синтез и секрецию мелатонина в моноцитах и макрофагах периферической крови и в эпифизе (Withyachumnarnkul B. et al., 1990).

Напротив, в других работах показано снижение выработки γ-IFN и IL-2 Th-1 клетками (Shaji A.V. et al., 1998), γ-IFN активированными макрофагами (Raghavendra V. et al., 2001) при введении мелатонина. Причем вводимый в культуру клеток мелатонин в дозе 12-50 мкг/мл приводил к максимуму пролиферативного потенциала Т-клеток, а более высокие дозы уже оказывали супрессирующее действие. Максимальное подавление продукции γ-IFN наблюдалось при дозе вводимого мышам мелатонина 50 мг/кг. Wang H. с соавт. (2005) продемонстрировали, что мелатонин снижает выработку провоспалительных цитокинов клетками Купфера крыс, таких как IL-1β и γ-IFN. Мелатонин обладает сильным гепатозащитным действием в качестве антиоксиданта. Мелатонин уменьшал инфильтрацию воспалительных клеток и некроз в печени и увеличивал экспрессию НАДФН: хинон-оксидоредуктазу-1, гемоксигеназу-1 и супероксиддисмутазу-2, которые снижались при помощи DMN. Мелатонин увеличивал экспрессию нового фактора транскрипции, Nrf2, и уменьшал экспрессию медиаторов воспаления, включая фактор некроза опухоли-альфа, интерлейкин (IL)-1β, IL-6 и индуцибельную синтазу оксида азота (Jung K.H. et al., 2009). В работе Ozkanlar S. с соавт. (2015) показано снижение плазменного уровня IL-1β, общего количества лейкоцитов, корково-мозгового соотношения в тимусе, количества положительных на эстеразу тучных клеток в селезёнке, тимусе и лимфатических узлах крыс, страдающих диабетом, после внутрибрюшинного введения мелатонина в дозе 10 мг/кг в течение 15 дней.

В ряде работ выявлено, что введение мелатонина приводит к увеличению выработки антител как у здоровых, так и ослабленных мышей (Maestroni G.J., 2001), а пинеалэктомия вызывает угнетение синтеза антител лимфоцитами (Gobbo V. et al., 1989). Несколько недавних экспериментов показали, что шишковидная железа имеет функциональные и анатомические связи, особенно с иммунной системой. В неонатальном периоде пинеалэктомия приводит к значительному снижению количества эритроцитов, лейкоцитов и лимфоцитов (Beskonakli E. et al., 2001). В экспериментах, где мышей содержали при постоянном освещении или вводили бета-адреноблокатор, произошло снижение массы и числа клеток селезёнки и тимуса (Maestroni G.J. et al., 1987, 1988). Геропротекторное действие мелатонина проявляется в увеличении количества тимоцитов у старых мышей при его введении (Tian Y.M. et al., 2003) за счет подавления синтеза глюкокортикоидов (Tian Y.M. et al., 2001; Torres-Farfan C. et al., 2003). Мелатонин, вводимый перорально, способствует выживанию предшественников В-лимфоцитов в костном мозге (Yu Q. et al., 2000).

Мелатонин обладает иммунотерапевтическим потенциалом как при вирусных, так и при бактериальных инфекциях. Мелатонин также может влиять на гемопоэз либо путем стимуляции гемопоэтических цитокинов, включая опиоиды, либо путем прямого воздействия на специфические клетки-предшественники, такие как клетки пре-В, моноциты и NK-клетки. Castrillon P. и др. (2000) продемонстрировали в своей работе, что мелатонин значительно увеличивал количество клеток CD4+ и уменьшал количество клеток CD8 +. Влияет ли мелатонин только на Th-1 клетки или также на Th-2 клетки, до конца не выяснено. Баланс соотношения Th-1/Th-2 имеет большое значение для иммунных реакций (Maestroni G.J., 2001). По данным Raghavendra V. и др. (2001), стимуляция мелатонином продукции анти-CD3 антител возможна только в присутствии

антигенпрезентирующих клеток и цитокинов, вырабатываемых Th2-клетками.

В то же время ряд исследований показывает, что экзогенный мелатонин может не иметь влияния на клетки иммунной защиты. Так, у крыс с опухолями молочной железы снижалось количество NK-клеток и не увеличивалось при введении мелатонина (Saez M.C. et al., 2005). В работе Provinciali M. с соавт. (1997) мелатонин вводился мышам с возраста 17–18 месяцев в дозе 40–50 мкг/сут на животное в течение 8 месяцев. Гормон не восстанавливал ни эндогенную, ни IL-2-индуцированную активность NK-клеток старых мышей, не влиял на их количество, а также не оказывал влияния на сниженную возрастную пролиферативную активность лимфоцитов селезёнки.

Мелатонин способствует Th1-опосредованным иммунным реакциям путем усиления выработки IL-12 антигенпрезентирующими клетками. Напротив, было также показано, что мелатонин может ингибировать иммунитет Th1 и вместо этого стимулировать ответ Th2 за счет снижения выработки γ-IFN и IL-12 антигенпрезентирующими клетками (Maiewska M. et al., 2007). Копаксhieva R. (1995) с соавт. установили, что мелатонин ингибирует конканавалин А-индуцированные включения в лимфоцитах миндалин и периферической крови человека.

С учетом иммуносупрессивных свойств мелатонин исследовался как пролонгатор выживаемости трансплантатов островков поджелудочной железы. У мышей, получавших мелатонин ежедневно в дозе 200 мг/кг, среднее время выживаемости островков увеличилось с 7 до 17 дней, что сопровождалось сокращением числа Th1-клеток, снижением пролиферации Т-клеток и спленоцитов, увеличением продукции иммуносупрессивного цитокина IL-10 (Lin G.J. et al., 2009). В работе Jung F.J. с соавт. (2004) было выявлено, что лечение мелатонином отменяет острое отторжение аллотрансплантата и значительно увеличивает выживаемость трансплантата, что мелатонин защищает ткани от повреждения свободными радикалами и ослабляет ишемию/ реперфузионное повреждение в трансплантатах органов; действует синергетически с клеточными антиоксидантами и проявляет сложные, дозозависи-

мые иммуноусиливающие и подавляющие эффекты in vitro и in vivo.

Таким образом, мелатонин оказывает несомненное влияние на иммунную систему, однако его действие зависит от исходного состояния организма, дозы, длительности введения и условий освещения. Поэтому необходимы дальнейшие исследования гормона на экспериментальных моделях перед широким применением в терапии иммунной патологии.

Анализ научной литературы показывает, что в последние два десятилетия объем экспериментальных и клинических данных, посвященных вопросам метаболизма, физиологической активности, а также иммуномодулирующим свойствам мелатонина, значительно возрос. Это обусловлено большим количеством терапевтических эффектов мелатонина: противовоспалительным, антиоксидантным, геропротекторным, онкопротекторным. Не подлежит сомнению, в основе всех этих эффектов лежит иммуномодулирующая способность мелатонина. Однако недостаточно информации о том, как взаимосвязаны нервный, иммунный компоненты при поступлении мелатонина в лимфоидных органах на экспериментальной модели с отсутствием фотопериода.

В настоящее время можно говорить о наличии нейроиммуно-эндокринной функциональной системы. Много исследований посвящено влиянию нервной и эндокринных систем на иммунные органы. Появились немногочисленные исследования влияния центрального органа иммунитета на ЦНС. Например, в ходе исследования взаимного влияния тимуса и эпифиза выявлено, что пептиды эпифиза (эпиталамин, эпиталон) оказывают сильное геропротекторное действие на тимус, а действие пептидов тимуса (тималин, тимулин, тимаген) на пинеальную железу хотя менее выражено, но определено. Тималин и тимический сывороточный фактор (тимулин) влияют на мелатонинобразующую функцию эпифиза, а мелатонин и эпиталамин — на клеточный состав красного костного мозга (Лабунец И.Ф., 2013).

1.2. Влияние мелатонина на иммунокомпетентные клетки в разных световых условиях

В изученной нами литературе мало исследований, посвященных влиянию сдвига фотопериода на иммунные органы (Арушанян Э.Б., 2012; Arushanian E.B., Beĭer E.V., 2012; Vishwas D.K., Haldar C., 2013). Существуют исследования, демонстрирующие отличия в воздействии мелатонина на показатели клеточного иммунитета при нормальном фотопериоде и непрерывном освещении (Gupta S., Haldar C. et al., 2014). Одно из важнейших физиологических значений мелатонина - синхронизация циркадных ритмов – связано с иммуностимулирующим действием (Baeza I., Alvarado C. et al., 2009; Gupta S., Haldar C. et al., 2014). Экстрапинеальный мелатонин может контролировать регуляцию иммунной системы и ингибировать выработку провоспалительных цитокинов и накопление тканевых тучных клеток, предотвращая разрушение лимфоидных органов при диабетическом процессе (Ozkanlar S., Kara A. et al., 2015). Одни исследователи считают, что мелатонин не оказывает ни прямого, ни опосредованного Т-лимфоцитами влияния на активированные макрофаги. Результаты других исследований показывают, что NK-клетки и моноциты были значительно увеличены в костном мозге как на 7-е, так и на 14-е сутки приема мелатонина в пище (Currier N.L., Sun L.Z., Miller S.C., 2000). Существует ряд исследований, свидетельствующих о чувствительности макрофагов и лимфоцитов селезёнки к условиям освещения, в которых находится организм, и, вероятно, реакция этих клеток на введение мелатонина будет так же зависеть от светового режима. Мелатонин оказывает прямое регуляторное действие на иммунную систему, стимулируя продуцирование цитокинов и интерлейкинов IL-2, IL-6, IL-12. Было показано, что мелатонин эффективен при купировании нейродегенеративных явлений, наблюдаемых на экспериментальных моделях болезни Альцгеймера, паркинсонизма и ишемического инсуль-Мелатонин сохраняет митохондриальный гомеостаз, уменьшает образование свободных радикалов, например, путем повышения уровней митохондриального глутатиона, и защищает протонный потенциал и синтез ATФ (SrinivasanV., Pandi-Perumal S.R., 2005).

Глава 2. ДИЗАЙН ЭКСПЕРИМЕНТА

Научные исследования были проведены в 2005–2019 гг. в лабораториях кафедр общей и клинической морфологии и судебной медицины (до 2015 г. – кафедра цитологии, эмбриологии, гистологии), медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии медицинского факультета ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» согласно государственному плану по темам «Гистохимия биогенных аминов в морфофункциональном состоянии органов и тканей в норме и эксперименте» (№ 0120.08518887 от 10.09.2008) и «Нейроиммуногистохимия органов и тканей в норме и эксперименте» (№ 115041410191 от 14.04.2015). Эксперименты проводились в осенне-зимний период — с ноября по январь.

Все исследования проводились при одобрении этического комитета медицинского факультета Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова (Выписка из протокола заседания \mathbb{N}_2 1 Этического комитета при ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» от 24 января 2013 г.).

Объектами гистологического исследования служили тимус и селезёнка 300 половозрелых белых нелинейных мышей-самцов двухмесячного возраста ко времени начала эксперимента. Было проведено шесть серий экспериментов в осенне-зимний период в разных условиях освещения (табл. 1).

Таблица 1 Условия проведения экспериментов

Условие эксперимента	Естественные		Условия	
эсловие эксперимента	условия освещения		затемнения	
Группа экспериментальных мышей	I	II	III	IV
Концентрация мелатонина в воде,	_	4	-	4
$M\Gamma/\Pi$				
Длительность, сут	28	28	28	28
Количество животных, шт.	40	40	40	40
Продолжительность светового дня, ч	8–9	8–9	_	_

Окончание табл 1

Условие эксперимента	Естести	Условия		
эсловие эксперимента	условия освещения		затемнения	
Освещенность утром, лк	50-150	50-150		
Освещенность пасмурным днем, лк	до 500	до 500	0.05	0.05
Освещенность ясным днем, лк	до 1000	до 1000	0-0,5 0-0	
Освещенность вечером, лк	100-200	100-200		

Животные были распределены на четыре группы:

I — животные (n = 40), которые содержались в течение четырех недель эксперимента в обычных условиях вивария (естественное освещение; продолжительность светового дня — 8—9 часов; освещенность на уровне клеток в утренние часы 50—150 люкс, днем в пасмурный день — до 500 люкс, в ясный день — до 1000 люкс, вечером — 100—200 люкс; свободный доступ к питьевой воде и корму).

II — животные (n = 40), получавшие синтетический мелатонин (препарат «Мелаксен» Unipharm, Inc., США) adlibium в концентрации 4 мг/л с питьевой водой (что составляет в среднем на одно животное 30 мкг в сутки) в течение четырех недель и находившиеся в обычных условиях вивария (естественное освещение; продолжительность светового дня — 8—9 часов; освещенность на уровне клеток в утренние часы — 50—150 люкс, днем в пасмурный день — до 500 люкс, в ясный день — до 1000 люкс, вечером — 100—200 люкс, свободный доступ к воде и корму).

III — животные (n = 40), находившиеся в условиях постоянного затемнения (клетки затемнялись черной тканью, не пропускающей свет, освещенность в клетках в течение дня составляла 0–0,5 люкс) в течение четырех недель (свободный доступ к питьевой воде и корму).

IV— животные (n = 40), получавшие синтетический мелатонин (препарат «Мелаксен» Unipharm, Inc., США) adlibium в концентрации 4 мг/л с питьевой водой в течение четырех недель и находившиеся в условиях постоянного затемнения (освещенность в клетках в течение дня составляла 0–0,5 люкс; свободный доступ к питьевой воде и корму).

Тимус, селезёнка у животных извлекались после декапитации на 28-е сутки эксперимента во второй половине дня (15:00–17:00) и фиксировались в 10 % формалине с последующей заливкой в парафин для общегистологических и иммунологических методов исследования.

Все действия, предусматривавшие контакт с лабораторными мышами, осуществлялись с учетом требований «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ МЗ РФ от 19.06.2003 № 267) и в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (National Competent Authorities for the implementation of Directive 2010.63.EU).

Общегистологические методы исследования

В ходе проведения исследования были применены следующие методы окраски:

- 1) окраска срезов гематоксилин-эозином для проведения общегистологической характеристики структур тимуса (Био-Витрум, Россия) (Роймес Б., 1954);
- 2) окраска полихромным толуидиновым синим по Унна (ВіоСаге, США) для визуализации гранул тучных клеток, содержащих гепарин (Бочкарев В.А., 1988, Гордон Д.С. и др., 1982). Представление о количественном распределении тучных клеток в тимусе давал подсчет их в 100 полях зрения микроскопа ZeissPrimoStar и программы Zen 2.6 (blueedition).

Люминесцентно-гистохимические методы исследования

1. Метод Фалька — Хилларпа в модификации Е.М. Крохиной применялся для избирательного выявления катехоламинов и серотонина (Крохина Е.М. и др., 1969; Falk B., Hillarp N.A., 1962). Срезы исследуемых органов инкубировались в параформальдегидной камере (параформальдегид) в течение 60 минут при температуре 80 °С. Метод основан на конденсации моноаминов с формальдегидом с образованием флуоресцирующих соедине-

- ний. Полученные препараты исследовались с помощью флюорисцентного микроскопа Leica DM4000 В Fluorescence Motorized Microscope Unit3.
- 2. Метод Кросса, Эвена, Роста для выявления клеток, содержащих гистамин (Cross S.A., Ewen S.W., Rost F.W., 1971). Метод определения гистамина в тканях основан на реакции паров ортофталевого альдегида с гистамином, в ходе которой образуются флюоресцирующие производные имидазолилэтиламина. Срезы обрабатывались в предварительно разогретой камере парами ортофталевого альдегида (1,2-benzendicarboxaldehyde, Jianghong chemicals, Китай) в термостате при температуре 100 °C в течение 10 секунд. Затем срезы при той же температуре на 2 минуты помещались в другую камеру, содержащую пары воды. Далее срезы высушивались в термостате при температуре 70 °C в течение 5 минут. Полученные препараты исследовались с помощью флюорисцентного микроскопа Leica DM4000 В Fluorescence Motorized Microscope Unit3 при длине волны возбужлающего света 360 нм.
- 3. Метод цитоспектрофлуориметрии для идентификации и количественного измерения содержания катехоламинов, серотонина и гистамина в исследуемых структурах тимуса. Для этого на люминесцентном микроскопе Leica была установлена дополнительная насадка ФМЭЛ-1А с выходным напряжением 900 В. Для определения серотонина использовался светофильтр № 8 с длиной волны 525 нм, для гистамина № 7 с длиной волны 515 нм и для катехоламинов фильтр № 6 с длиной волны 480 нм. Показания снимались с табло усилителя У-5 в условных единицах флюоресценции (у. е.).
 - 4. Иммуногистохимические методы (см. табл. 2).

С парафиновых блоков с помощью микротома выполняли срезы толщиной 5 мкм и монтировали их на предметные стекла, покрытые поли-L-лизином. Стекла высушивали при температуре 37 °C в течение 12 часов и перед нанесением антител при температуре 60 °C в течение 1 часа.

Депарафинирование: срезы инкубировали в ксилоле – три смены по 10 минут, высушивали. Регидратация: срезы промывали дистиллированной водой в две смены по 5 минут. Стёкла

ставили в разогретую до 98 °C водяную баню. Демаскировка антигенов: предметные стекла помещали в ёмкость с буферными растворами рН 6,0 или рН 9,0 (ЭДТА) на 20–25 минут при температуре 95 °C. Ёмкости со стёклами охлаждали в течение 20 минут до комнатной температуры, промывали дистиллированной водой в две смены по 5 минут. Срезы обрабатывали 3% раствором перекиси водорода в течение 30 минут, промывали дистиллированной водой — две смены по 5 минут. Разводили антитела в пробирках типа эппендорф 0,5 мл в необходимом титре (табл. 2). Наносили на предметные стёкла первичные антитела. Стёкла с нанесённым антителом выдерживали в течение 30 минут при комнатной температуре, обрабатывали раствором трифосфатного буфера и промывали этим же раствором — две смены по 5 минут, затем их инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре:

- а) в растворе BioGenex полимеразная система детекции, в качестве хромогена диаминобензидин для S100, NSE, Bcl, CD68:
- б) стекла инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре в фосфатно-солевом буфере с добавлением 10% козьей сыворотки и 0,05% тритона X-100 для блока неспецифического связывания. В качестве вторичных антител использовались биотилинированные антитела (1:250; goatanti-ratIgG; VectorLaboratories). С целью выявления биотиновой метки срезы обрабатывались авидин-пероксидазным комплексом (ABC, VectorLaboratories). Данный метод основан на высоком химическом сродстве авидина к биотину. Инкубация с 3,3-диаминобензидин тетрахлоридом (Sigma-Aldrich) придавала специфическое коричневое окрашивание структурам для Iba 1, МНС II.

Далее стёкла ополаскивали раствором трифосфатного буфера и промывали этим же раствором в две смены по 5 минут. Срезы обрабатывали раствором DAB (1 капля диаминобензидина (хромоген) на 1 мл буфера) в течение 2,5 минут. Срезы промывали дистиллированной водой в две смены по 5 минут. После докрашивания срезы промывали дистиллированной водой в течение 3 минут, затем их инкубировали в этаноле в три смены по 5 минут, затем в ксилоле в две смены по 5 минут, высушивали.

Заключение: на стёкла наносили бальзам (DIAPATH, Италия) и покровное стекло. Стёкла высушивали при комнатной температуре в течение 24 часов.

Таблица 2 Иммуногистохимические методы исследования (непрямой иммуноферментный анализ). Характеристика используемых маркеров

Маркер	Произво- дитель	Клон	Разве- дение	Выявленное вещество	Выявляемый тканевый элемент
S 100, кролик	Spring Bio Science	поли- кло- наль- ное	1:300	синаптофи- зин	Астроциты, нейроэндо- кринные клетки, оли- годендро- глиоциты,
					эпиндимо- циты, астро- циты
NSE кролик	SpringBio science	поли- кло- наль- ное	1:300	Нейронспе- цифическая енолаза	Нейроны, нейроэндо- кринные клетки, оли- годендрог- лиоциты, эпиндимо- циты, астро- циты, клетки мозгового вещества надпочечни- ков
Bcl кролик	Cell Marque	Моно- кло- наль- ное SP 66	1:50	Онкопротеин Всl 2	

Продолжение табл. 2

				JA01	D 0
Monross	Произво-	L/ more	Разве-	Выявленное	Выявляемый
Маркер	дитель	Клон	дение	вещество	тканевый
Mo a	DAKO,	MOHO		Serotonin	Элемент
Human		моно-		Serotonin	Нейроэндо-
	Дания	кло-			кринные
Serotonin		наль-			клетки
МЫШЬ		ное 5HT-			
Ki 67	Name	H209		п	G
K1 6/	Novo-	Моно-		Ядерный	Ядра клеток,
	Castra,	кло-		негистоно-	находящихся
	Велико-	наль-		вый протеин,	в активной
	британия	ное		маркер кле-	фазе клеточ-
		MM-1		точной про-	ного цикла,
				лиферации	на всём его
					протяжении
					(G1-, S-, G2-
					и М-фазы),
					кроме G0
CD68	Dako,	Моно-	1:100	Макросиа-	Моноциты,
кролик	Дания	кло-		лин, инте-	макрофаги,
		нальное		гральный	дендритные
		N/A		гликопроте-	клетки
				ин I типа	
Iba 1	Wako	Поли-	1:1000	Кальцийсвя-	Макрофаги,
кролик	Chemicals	кло-		зывающая	микроглия
	GmbH,	наль-		адапторная	
	Neuss,	ное		молекула	
	Germany				
MHC II	RT1Bu	Моно-	1:4	Белки глав-	Макрофаги,
крыса	Serotec,	кло-		ного ком-	В-лимфоци-
	Germany	наль-		плекса гис-	ты, дендрит-
		ное		тосовмести-	ные клетки
		OX-6		мости второ-	и некоторые
				го класса	эпителиаль-
					ные

Окончание табл. 2

Маркер	Произво- дитель	Клон	Разве- дение	Выявленное вещество	Выявляемый тканевый элемент
Р38 кролик	Cell signal- ling Tech- no-logy, USA	Поли- кло- наль- ное	1:100	Митогенактивированная протеинкиназа, цитокинспецифически связывающий белок	
caspase-3 (L-18) коза	Santa Cruz, Germany	Поли- кло- наль- ное	200 µg/ml	Цитоплазма- тический белок	Лифоциты, кардиомио- циты, гепа- тоциты, аль- веолоциты

Компьютерная морфометрия. Цифровые снимки микропрепаратов получены с помощью микроскопа Zeiss Primo Star и программы Zen 2.6 (blueedition). Микрофотографии для проведения морфометрических измерений были получены при увеличениях × 100 и × 400, с обозначением градуировочной линейки на каждом снимке. Морфометрические измерения выполнены с помощью программы Zen 2.6 (blue edition), а также демоверсии программы Sigma Scan Pro. Площадь мембранной и цитоплазматической иммуногистохимической реакции оценена методом автоматического выделения и подсчета площади интересующего цветового спектра (окрашенного DAB) по отношению к площади снимка. Затем числовые значения площади позитивной иммуногистохимической реакции переводились в процентное отношение к общей площади снимка. Для каждого среза выполнены измерения не менее чем в 10 интересующих полях зрения. При малом количестве клеток, дающих цитоплазматическую или мембранную окраску, применен метод их визуального подсчета в десяти интересующих полях зрения при увеличении × 400.

Статистический анализ обработки полученных цифровых данных проводился с использованием пакета программ Microsoft Office® Excel 2007 и SPSS Statistics 17.0 (Плеханов А.В., 2010). Использовался критерий Вилкоксона — Манна — Уитни. Различия считались значимыми при критерии р < 0,05 (Медик В.А. и др., 2000).

Корреляционный анализ применялся для выявления взаимосвязи между количественными показателями распределения исследуемых клеток в разных функциональных зонах органа (Кремер Н.Ш., 1992). Корреляционным анализом взаимосвязь между показателями количества исследуемых клеток считали достоверной при критерии значимости менее 0,05. Коэффициент корреляции рассчитывался по программе SPSS Statistics 17.0. Связь между количествами клеток считали слабой при значении коэффициента корреляции r = 0,3-0,5; умеренной – при значении коэффициента корреляции r = 0,5-0,7; сильной – при значении коэффициента корреляции r = 0,7-0,9 и полной – r более 0,9. Также вычислялись средние значения (r) количеств структур и стандартные отклонения от них (r).

Глава 3. ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА КЛЕТКИ ДИФФУЗНОЙ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ В РАЗНЫХ СВЕТОВЫХ УСЛОВИЯХ

3.1. Морфофункциональная реакция клеток диффузной эндокринной системы тимуса на поступление мелатонина в разных световых условиях

Цитохимически выделяют три различных популяции эндокринных клеток тимуса, а именно: аргентаффинные клетки, аргирофильные клетки и биоаминсодержащие (Uma Kanta Mishra, 2013). Эти клетки являются частью диффузной эндокринной системы (ДЭС), в пределах которой выделяют центральное фотозависимое звено серотонин- и мелатонин-продуцирующих клеток (эпифиз и клетки сетчатки глаза) и периферическое фотонезависимое, включающие клетки всех висцеральных органов и кожи.

3.1.1. Сведения о нейромедиаторных биогенных аминах

Биоаминсодержащие клетки являются частью ДЭС. К этой системе относят клетки, расположенные на границе коркового и мозгового вещества и проявляющие свойства местных биоаминпродуцентов, а также стромальные клетки коркового и мозгового вещества долек тимуса, обладающие биоаминпоглотительными свойствами и создающие биоаминное микроокружение лимфоцитов тимуса (Сергеева В.Е., Гордова В.С. и др., 2019; Uma Kanta Mishra, 2013).

В изученной нами литературе мало исследований, посвященных влиянию сдвига фотопериода на иммунные органы. Существуют исследования, показывающие отличия в воздействии мелатонина на показатели клеточного иммунитета при нормальном фотопериоде и непрерывном освещении (Литвиненко Г.И., Шурлыгина А.В. и др., 2015). Мы предполагаем, что отсутствие фотопериода при постоянном освещении или постоянном затемнении повлияет на серотонинэргическую

систему тимуса, а также на направление и интенсивность воздействия мелатонина.

Взаимодействие нервной, иммунной и эндокринной систем обеспечивает регуляцию функционирования организма в целом и иммунных процессов в частности (Guo Q., Wang Z. et al., 2016; Gupta S., Haldar C., 2014). Клетки диффузной эндокринной системы, продуцирующие нейромедиаторные биогенные амины и расположенные в иммунных органах, — яркий пример кооперации этих систем.

Нейромедиаторные биогенные амины — это химические посредники, которые участвуют не только в процессах синаптической нервной передачи, но и работают как местные гормоны и обладают широким спектром биологических эффектов (Гордон Д.С., Сергеева В.Е., Зеленова И.Г., 1982; Гордон Д.С. и др., 1978–2017; Сергеева В.Е. и др., 1974–2019; Виноградов С.Ю., Диндяев С.В., 2010; Ястребова С.А. и др., 2018). Действие биоаминов на иммунную систему осуществляется через моноаминергические системы посредством механизмов, присущих внутрииммунной регуляторной системе, путем перераспределения и активирования функционально отличающихся популяций клеток. Нейромедиаторы и нейропептиды, высвобождающиеся из нервных окончаний, могут модулировать секрецию гормонов и функцию лимфоцитов (Лузикова Е.М., 2008).

Катехоламины (КА) — это биоамины, синтезирующиеся из аминокислоты тирозина через образование 3,4-дигидроксифенилаланина (ДОФА). Из ДОФА затем образуется дофамин, далее — норадреналин и адреналин. Связывание КА с мембранным рецептором ведет к специфической активации аденилат- или гуанилатциклазы с соответствующим изменением внутриклеточной концентрации циклических нуклеотидов: цАМФ и цГМФ, которым как вторичным мессенджерам принадлежит важная роль в регуляции различных физиологических и патологических процессов, в том числе и иммунологических (Сергеева В.Е., Сарилова И.Л., 2005).

Дезактивация КА происходит разными способами: окислительным дезаминированием с помощью моноаминооскидо-

зы (МАО), метилированием с помощью катехол-О-метилтрансферазы, хиноидным окислением, ацетилированием. Мощный механизм инактивации КА — обратный нейрональный захват (Шатских О.А., 2015). Кроме нейронального захвата норадреналина имеет место и их экстранейрональный захват тканевыми структурами. При помощи люминесцентногистохимического исследования экстранейрональный захват катехоламинов наблюдали в селезёнке (Зеленова И.Г., 1979), тимусе (Сергеева В.Е., 1974–1992), лимфатическом узле (Зеленова И.Г., 1974; Смородченко А.Т., 1996), красном костном мозге (Любовцева Л.А., 1976–1993). Катехоламины способны к неферментативной инактивации с помощью связывания с фосфолипидами, кислотными радикалами, белками (Гордон Б.М., 2000).

КА участвуют в иммунном ответе посредством макрофагов, в которых под их влиянием активируется фагоцитоз и увеличивается число Т-хелперов (Альперина Е.Л., 1998). КА воздействуют на циркуляцию, миграцию и пролиферацию лимфоцитов, влияют на продукцию цитокинов и функциональную активность лимфоидных клеток (Забродский П.Ф. и соавт., 2001).

Серотонин (5-окситриптамин) (СТ) — нейромедиатор, по химическому строению относится к группе индолалкиламинов, образуется из аминокислоты триптофана. Инактивирование серотонина происходит путем обратного захвата терминалями нервных окончаний и дезаминирования моноаминоксидазой.

Серотонин синтезируется в клетках ДЭС-системы желудочно-кишечного тракта, ЦНС, красного костного мозга, гонад, легких, лимфоидных органов, эндокринных желез, почках (Виноградов С.Ю., Погорелов Ю.В., 1984; Гордон Д.С., Сергеева В.Е., Зеленова И.Г., 1982; Кветной И.М., 2002; Любовцева Л.А., 1993; Яглов В.В., 1989). Этот медиатор депонируется в хромаффинных клетках, тромбоцитах, тучных клетках (Науменко Е.В. и др., 2001). Люминесцентно-гистохимическими методами выявлено присутствие серотонина в структурах тимуса (Сергеева В.Е., 1982–1992) и селезёнки (Сысоева Л.А., 1988).

Гистамин - биогенный амин, образующийся при декарбоксилировании аминокислоты гистидина, катализируемого гистидиндекарбоксилазой (Чернух А.М., 1979). Он является одним из медиаторов, участвующих в регуляции жизненных функций организма. Введенный в организм гистамин влияет на все органы и ткани: вызывает делятацию сосудов, увеличивая их проницаемость, сдвигает окислительно-восстановительный потенциал молочной и пировиноградной кислот в сторону аэробизации. Гистамин, являясь медиатором аллергии, имеет прямое отношение к явлениям сенсибилизации и десенсибилизации. Повышение уровня гистамина в крови при аллергических состояниях сопровождается снижением активности диамоксидазы (Вайсфельд И.Л., Кассиль Г.Н., 1981). Чувствительность сосудов к гистамину повышается при их денервации. При повышенной чувствительности к гистамину используются антигистаминные препараты, оказывающие влияние на рецепторы сосудов. Кроме того, гистамину приписывают роль медиатора боли. Гистамин стимулирует НРА систему, вызывая процессы возбуждения в различных структурах (гипоталамус, мозжечок) (Blanco J. et al., 1973; Green J.P., 1963). Гистамин играет важную роль в качестве нейротрансмиттера в различных функциях мозга, клиренс гистамина необходим для предотвращения чрезмерной гистаминергической активности нейронов. Гистамин N-метилтрансфераза, являющаяся ферментом в центральной нервной системе, которая метаболизирует гистамин, локализуется в цитозоле. Это говорит о том, что процесс транспорта гистамина необходим для его инактивации. Высокоаффинные и селективные переносчики гистамина еще не были обнаружены, хотя сообщалось, что следующие три полиспецифических переносчика транспортируют гистамин: переносчик органических катионов (ОСТ) 2, ОСТ3 и переносчик моноаминов плазматической мембраны (РМАТ) (Yoshikawa T., Yanai K., 2017).

Уэст и Райли (West, Riley, 1955) показали, что тучные клетки (ТК) являются главным хранилищем гистамина в тканях. Были обнаружены прямые корреляционные связи между содержанием гистамина и числом ТК в различных тканях. Было доказано, что гистамин в организме может находиться в нескольких

формах: свободный гистамин и гистамин, связанный с белками класса IgG, гистамин в специфических гранулах, связанный гликопротеидами, липидами, ДНК, гепарином (Вайсфельд И.Л., Кассиль Г.Н., 1981). Преимущественно гистамин находится в организме в связанном, неактивном состоянии, но может высвобождаться при введении различных веществ (никотиновая кислота, тубокурарин, морфин) и при патологических состояниях организма (анафилактический шок, сенная лихорадка, ожоги, крапивница). Было выявлено, что индукторы выделения гистамина приводят также к тотальной дегрануляции ТК под влиянием ATФ и Ca2+ (Krger C., Gëran P. et al., 1974). Известно, что тучные клетки содержат ферменты, необходимые для синтеза гистамина и его предшественников. Гистамин увеличивает число ТК в субкапсулярной зоне вилочковой железы. Также экзогенный гистамин приводит к деструкции тимоцитов, разрыхлению основного вещества соединительной ткани. Содержание гистамина в клетках опухолей, исходящих из ТК, при их многократном пассивировании вне организма увеличивается, а не снижается, как можно было бы ожидать, если бы ТК не сами синтезировали тот гистамин, который в них содержится. Концентрация гистамина в тучных клетках не является стабильной и зависит от степени зрелости клеток, возраста, состояния животного, сезона года (Лузикова Е.М., 2008).

Впервые гистамин появляется на 13-й день эмбрионального развития в кишечной трубке и зачатке печени. К 14-м суткам зачаток селезёнки содержит гистаминсодержащие иммунокомпетентные клетки. С 14-го дня тучные клетки образуются в соединительной ткани. Лейкоциты так же способны секретировать гистамин под влиянием антител подкласса IgG4. Антитела других подклассов IgG высвобождают очень малое количество гистамина из лейкоцитов (Хиндоча П., Вуд К.Б., 1985). Высвобождение гистамина из гистаминопептидов в ткани миокарда индуцируется норадреналином.

Клетки тимуса, содержащие гистамин, делятся на две группы: клетки премедуллярной зоны (гистаминпродуценты), и клетки субкапсулярной зоны (гистаминпоглотители) (Любовцева Л.А., 1976, 1993), что подтвердилось исследованиями Б.М. Гордон, который установил сильную обратную корреляционную связь между концентрациями гистамина премедуллярных и субкапсулярных клеток (Лузикова Е.М., 2005).

В тимусе после поступления растворимого антигена в первый час воздействия гистамин перераспределяется между тканевыми структурами (Гордон Б.М., 1990). Гистаминовая реакция тимуса на гуморальный антиген лежит в основе формирования супрессии Т-иммунитета в ответ на В-стимуляцию (Дюговская Л.А., Тимченко С.В., 1981). В дендритных клетках селезёнки гистамин ускоряет поглощение растворимого антигена через рецепторы H_1R , H_2R и H_4R (Schenk H., Neumann D., Kloth C., 2016).

Простагландины Е стимулируют высвобождение гистамина из тучных клеток крыс и увеличение в них циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) (Гущин И.С., Фредхольм Б., Увнас Б., 1975), но высвобождение гистамина не зависит от цАМФ.

Во многих исследованиях авторы отмечают суточные колебания биогенных аминов в тканях (Лузикова Е.М., 2008). Помимо суточного исследователями установлено сезонное колебание уровня биогенных аминов в тимусе и селезёнке крыс. Как показывает литературный обзор, нейромедиаторные биогенные амины обладают широким спектром действия, участвуя в различных процессах, происходящих в организме, в частности в регуляции иммуногенеза. В современной литературе достаточно много данных об иммуностимулирующем действии мелатонина, реализующемся через рецепторы иммунных клеток. Мелатонин, как и система биогенных аминов, относится к основным адапторным молекулам, обеспечивающим тканевый гомеостаз. Выявлено, что эффекты мелатонина частично реализуются посредством влияния на систему биогенных аминов (Лузикова Е.М., 2008).

3.1.2. Гистаминсодержащие клетки тимуса

Люминесцентно-гистохимический метод Кросса, Эвена, Роста позволил выявить клетки, содержащие гистамин в тимусе экспериментальных мышей. На границе коркового и мозгового вещества долек тимуса располагаются в один или два ряда люминесцирующие гранулярные клетки кортико-медуллярной зоны (ЛГК КМЗ), которые окружают мозговое вещество долек

непрерывным ободком. ЛГК кортико-медуллярной зоны представлены крупными клетками с хорошо различимой зернистостью в цитоплазме, люминесцирующими желтым светом (рис. 1). В толще коркового вещества долек тимуса видны беспорядочно располагающиеся ЛГК коркового вещества долек с мелкими гранулами желтого свечения в цитоплазме. По размерам данные клетки меньше, чем ЛГК кортико-медуллярной зоны долек (рис. 2). Ядра выявляемых клеток не люминесцируют. Между ярко светящимися гранулярными клетками тимуса располагаются тимоциты коркового и мозгового вещества долек (Шатских О.А., 2015).

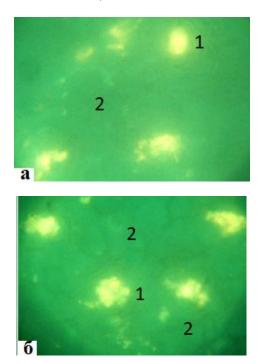


Рис. 1. Люминесцирующие гистаминсодержащие гранулярные клетки на границе коркового и мозгового вещества дольки тимуса экспериментальных животных, находившихся в течение двух (a) и четырех (δ) недель в условиях обычного освещения: 1 – ЛГК; 2 – тимоцитарная паренхима (метод Кросса, Эвена, Роста. Микроскоп ЛЮМАМ-1. Об. 100. Ок. 10)

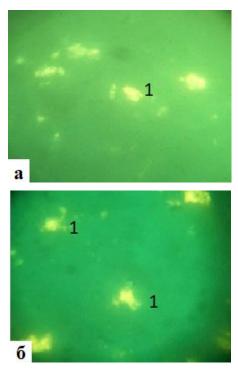
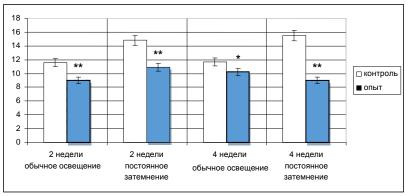


Рис. 2. Люминесцирующие гранулярные клетки коркового вещества дольки тимуса экспериментальных животных, находившихся в течение двух (*a*) и четырех (*б*) недель в условиях обычного освещения: 1 – ЛГК (метод Кросса, Эвена, Роста. Микроскоп ЛЮМАМ-1. Об. 100. Ок. 10)

Диаграммы интенсивности люминесценции гистамина (рис. 3) показывают, что введение мелатонина независимо от длительности и условий освещения приводит к снижению интенсивности люминесценции гистамина в ЛГК коркового вещества (ЛГК КВ) долек тимуса.

Так, у животных, содержавшихся в течение четырех недель в условиях естественного освещения и не получавших ежедневно мелатонин, содержание гистамина снижается и составляет $10,20\pm0,46$ усл. ед. (по сравнению с $11,70\pm0,48$ в контрольной I группе (р < 0,05).

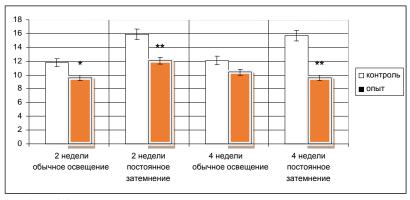
У мышей на 4-й неделе эксперимента в условиях постоянного затемнения и ежедневного поступления мелатонина фиксируется низкое значение интенсивности свечения гистамина в ЛГК коркового вещества дольки. Оно составляет $9,00\pm0,41$ усл. ед. по сравнению с соответствующими значениями в III группе $(15,50\pm0,77$ усл. ед. (p<0,001).



p < 0.05

Рис. 3. Интенсивность люминесценции гистамина в ЛГК коркового вещества долек тимуса экспериментальных мышей, усл. ед.

^{**} p < 0.001



^{*} p < 0.05 ** p < 0.001

Рис. 4. Интенсивность люминесценции гистамина в ЛГК на границе коркового и мозгового вещества долек тимуса экспериментальных мышей, усл. ед.

Введение мелатонина в течение двух недель мышам, содержавшимся в условиях обычного освещения, приводит к снижению интенсивности люминесценции гистамина в ЛГК кортикомедуллярной зоны долек тимуса в 1,2 раза (р < 0,05), а в условиях постоянного затемнения — в 1,3 раза (р < 0,001). Более значительные изменения интенсивности свечения гистамина отмечаются в ЛГК кортико-медуллярной зоны долек тимуса мышей, получавших мелатонин в течение месяца в условиях постоянного затемнения, где значения изучаемого параметра снижаются в 1,6 (р < 0,001) раза по сравнению с мышами 4-й контрольной группы.

Необходимо отметить, что нахождение животных в условиях постоянного затемнения приводит к увеличению свечения гистамина в исследуемых клетках в 1,3 (p < 0.001) раза по сравнению с контрольными животными, содержавшимися в обычных условиях освещения.

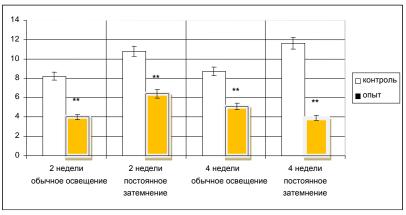
Таким образом, мелатонин, независимо от световых условий, снижает гистаминпродукцию и гистаминпоглощение в ЛГК тимуса. ЛГК дольки тимуса контрольных мышей на условия по-

стоянного затемнения реагируют увеличением в них гистамина (Шатских О.А., 2015).

В наших исследованиях (Шатских О.А., Сергеева В.Е., 2013) в лимфоцитах коркового и мозгового вещества дольки тимуса введение мелатонина, независимо от сроков введения и условий освещения, приводит к снижению интенсивности свечения гистамина (рис. 5, 6). В лимфоцитах коркового вещества дольки тимуса мышей, получавших мелатонин в условиях обычного освещения, выявляется снижение интенсивности свечения гистамина в 2 раза (р < 0,001) на 2-й неделе эксперимента, в 1,7 раза – на 4-й неделе введения гормона (р < 0,001) по отношению к контрольным животным. У мышей, получавших гормон в условиях постоянного затемнения в течение двух недель, наблюдается схожая картина, где уровень интенсивности свечения гистамина снизился в 1,7 раза (р < 0,001) по сравнению со 2-й контрольной группой. Более выраженное снижение интенсивности люминесценции гистамина в лимфоцитах коркового вещества дольки выявляется на 4-й неделе введения гормона в условиях постоянного затемнения, где он достигает 3.90 ± 0.38 усл. ед., что в 3 раза ниже (р < 0.001), чем у мышей контрольной группы. Двухнедельное введение гормона опытным мышам в различных условиях освещения снижает интенсивность люминесценции гистамина в лимфоцитах мозгового вещества дольки в 1,7 раза (р < 0,001), а четырехнедельное введение гормона в условиях затемнения в 3 раза (р < 0,001) по сравнению с контрольными животными. У мышей, получавших мелатонин в течение четырех недель в обычных условиях освещения, уровень интенсивности гистамина в лимфоцитах мозгового вещества дольки снизился до $4,60 \pm 0.27$ усл. ед. против $6,00 \pm 0.40$ усл. ед. у контрольных животных (p < 0.05).

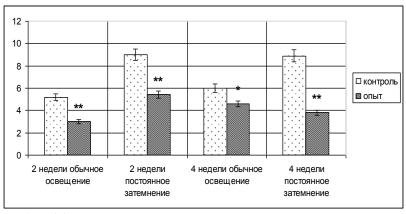
Нами было выявлено, что содержание контрольных животных в условиях отсутствия фотопериода приводит к увеличению содержания гистамина в лимфоцитах мозгового вещества в 1,7 раза (срок эксперимента — две недели, р < 0,001) и в 1,5 раза (срок эксперимента — четыре недели, р < 0,001) по сравнению с мышами, находившимися в условиях естествен-

ного фотопериода, а в лимфоцитах коркового вещества долек тимуса – в 1,3 раза (p < 0.001) соответственно (рис. 5, 6).



** p < 0.001

Рис. 5. Интенсивность люминесценции гистамина в лимфоцитах коркового вещества долек тимуса экспериментальных мышей, усл. ед.



* p < 0,05 ** p < 0,001

Рис. 6. Интенсивность люминесценции гистамина в лимфоцитах мозгового вещества долек тимуса экспериментальных мышей, усл. ед.

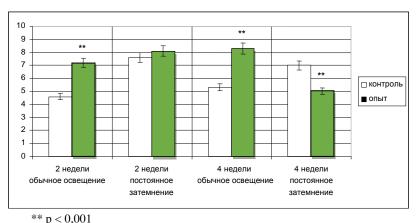
Таким образом, поступление мелатонина в организм лабораторных мышей, независимо от сроков и условий освещения, приводит к снижению интенсивности свечения гистамина во всех содержащих его клетках дольки тимуса: в ЛГК КВ, ЛГК КМЗ долек, лимфоцитах коркового и мозгового вещества долек. Пребывание контрольных мышей в условиях постоянного затемнения отражается на гистаминсодержащих клетках тимуса (ЛГК КВ, ЛГК КМЗ долек, лимфоцитах коркового и мозгового вещества долек) противоположным образом: в них интенсивность свечения гистамина возрастает вне зависимости от длительности условий затемнения (Шатских О.А., 2015).

3.1.3. Серотонинсодержащие клетки тимуса

Люминесцентно-гистохимический метод Фалька — Хиларпа в модификации Е.М. Крохиной позволил выявить клетки, содержащие серотонин, в тимусе мышей опытных и контрольных групп. В дольках тимуса на границе коркового и мозгового вещества располагаются в один — два ряда люминесцентногранулярные клетки кортико-медуллярной зоны (ЛГК КМЗ) долек тимуса, которые формируют вокруг мозгового вещества непрерывные рамки. Крупные полигональной формы клетки содержат желтовато-белые гранулы различной величины, содержащие катехоламины, серотонин (Сергеева В.Е., 1992; Сергеева В.Е., Гордон Д.С., 1992). В толще коркового вещества долек тимуса видны небольшие диффузно расположенные люминесцентно-гранулярные клетки (ЛГК КВ) с мелкими гранулами зеленовато-желтого свечения в цитоплазме.

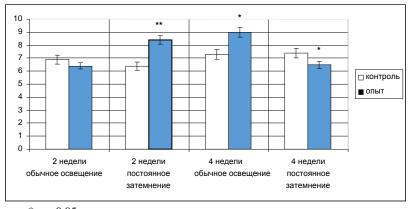
Наши исследования (Шатских О.А., Сергеева В.Е., 2013; Шатских О.А., 2015) показывают, что введение мелатонина мышам, находившимся в течение двух и четырех недель в условиях обычного освещения, приводит к увеличению интенсивности свечения серотонина в ЛГК КВ в 1,5 раза (р < 0,001) по сравнению с контрольными животными (рис. 7, 8). В ЛГК на границе коркового и мозгового вещества дольки отмечается тенденция к увеличению интенсивности люминесценции серотонина у мышей, получавших мелатонин в течение двух недель в условиях постоянного затемнения, в течение четырех недель в условиях обычного освещения и снижается, в условиях посто-

янного затемнения в течение четырех недель. Отмечается резистентность уровня серотонина в ЛГК КМЗ к световым условиям у животных, не получавших мелатонин и в то же время наблюдается влияние мелатонина на уровень серотонина в ЛГК КМЗ.



p < 0,001

Рис. 7. Интенсивность люминесценции серотонина в ЛГК КВ долек тимуса экспериментальных мышей, усл. ед.



p < 0.05

Рис. 8. Интенсивность люминесценции серотонина в ЛГК на границе коркового и мозгового вещества долек тимуса экспериментальных мышей, усл. ед.

^{**} p < 0.001

У мышей, находившихся в условиях постоянного затемнения, введение мелатонина в течение месяца индуцирует снижение интенсивности свечения серотонина в 1,4 раза (р < 0,001) в ЛГК КВ дольки по сравнению с контрольными животными, а в ЛГК на границе коркового и мозгового вещества дольки менее значительно — в 1,1 раза (р < 0,05) по сравнению с мышами 4-й контрольной группы.

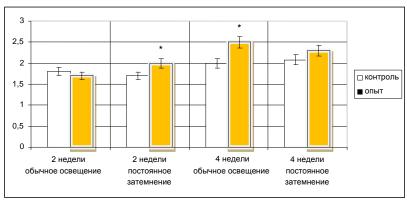
Отсутствие фотопериода в течение двух и четырех недель привело к увеличению интенсивности свечения серотонина в ЛГК КВ дольки (р < 0,001), что составило $7,60\pm0,29$ и $7,00\pm0,21$ усл. ед. против $4,60\pm0,26$ и $5,30\pm0,25$ усл. ед. соответственно по сравнению с показателями свечения серотонина у мышей, которые пребывали в обычных условиях освещения.

Итак, сходные реакции ЛГК КВ и ЛГК КМЗ долек тимуса на введение мелатонина заключаются в увеличении интенсивности свечения в этих клетках серотонина при введении мелатонина в течение двух недель в условиях постоянного затемнения и в течение четырех недель в обычных условиях освещения, а также в уменьшении интенсивности люминесценции в них серотонина при введении мелатонина в течение месяца в условиях постоянного затемнения. Изменения интенсивности свечения серотонина в лимфоцитах коркового и мозгового вещества тимусной дольки экспериментальных мышей представлены на рис. 9, 10.

Как видно из приведенных графиков, введение мелатонина в течение двух недель в условиях постоянного затемнения и в течение четырех недель в условиях обычного освещения вызывает увеличение интенсивности свечения серотонина в лимфоцитах коркового вещества дольки, что составляет $2,00\pm0,11$ и $2,50\pm0,14$ усл. ед. соответственно, против $1,70\pm0,10$ и $2,00\pm0,15$ усл. ед. у контрольных мышей (р < 0,05).

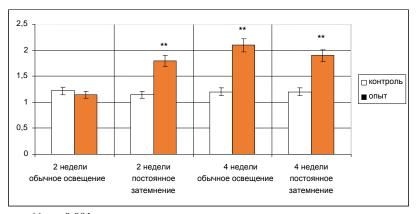
Мелатонин в большей степени увеличивает интенсивность свечения серотонина в лимфоцитах мозгового вещества дольки мышей, получавших гормон в течение четырех недель в условиях естественного фотопериода, и независимо от длительности в

условиях постоянного затемнения, что составляет 1,80 \pm 0,12 (p < 0,001), 2,10 \pm 0,15 (p < 0,001) и 1,90 \pm 0,12 усл. ед. (p < 0,001) соответственно, у контрольных животных — 1,14 \pm 0,05; 1,20 \pm 0,06 и 1,20 \pm 0,06 усл. ед. соответственно.



p < 0.05

Рис. 9. Интенсивность люминесценции серотонина в лимфоцитах коркового вещества долек тимуса экспериментальных мышей, усл. ед.



** p < 0,001

Рис. 10. Интенсивность люминесценции серотонина в лимфоцитах мозгового вещества долек тимуса экспериментальных мышей, усл. ед.

Интересно, что уровень серотонина в ЛГК долек тимуса в 2–3 раза выше, чем в лимфоцитах коркового и мозгового вещества долек тимуса как у контрольных, так и у опытных мышей, что свидетельствует о том, что мелатонин не подавляет функцию аминодепонирования в ЛГК долек тимуса.

Обращает на себя внимание то, что отсутствие фотопериода практически не отражается на интенсивности люминесценции серотонина в лимфоцитах коркового и мозгового вещества долек тимуса. В условиях естественного фотопериода влияние мелатонина на серотонинэргическую систему тимуса более выражено в мозговом веществе по сравнению с корковым и проявляется в усилении аминопоглощения лимфоцитами на 4-й неделе эксперимента.

Для выявления и морфометрии нейроэндокринных серотонинсодержащих клеток была проведена иммуногистохимическая обработка срезов тимуса моноклональными антителами к серотонину 5HT-H209 (Daco, Дания). В тимусе контрольных животных (I экспериментальная группа) серотонинпозитивные клетки выявляются в корковом и мозговом веществе долек, а также на границе коркового и мозгового вещества долек тимуса. Также позитивную реакцию дает плазма крови, эндотелий сосудов и тучные клетки (рис. 11). Серотонинсодержащие клетки ДЭС на границе коркового и мозгового вещества долек тимуса немногочисленны, расположены небольшими группами, среднее их количество равно $7,29 \pm 1,2$ в $1\,$ мм 2 .

Серотонинсодержащие клетки границы коркового и мозгового вещества долек, являясь аминопродуцентами, обеспечивают поддержание тканевого гомеостаза. Лимфоцитарная паренхима поглащает серотонин. Оптическая плотность серотонина позволяет судить о концентрации вещества и активности серотонинпродукции и серотонинпоглощения. Средняя оптическая плотность серотонина в них 0.27 ± 0.01 , а средняя оптическая плотность серотонина в межклеточном веществе вокруг исследуемых клеток достигает 0.05 ± 0.004 . По результатам наших исследований, искусственное затемнение (III экспериментальная группа) не приводит к достоверным изменениям количества серотонинпозитивных клеток грани-

цы коркового и мозгового вещества и в корковом веществе тимусных долек.

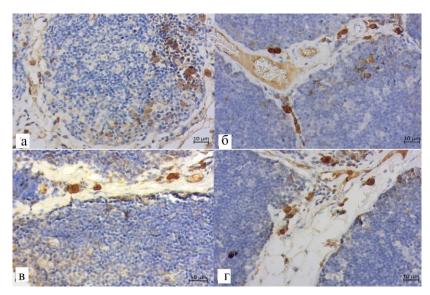


Рис. 11. Тучные клетки в септах тимуса животных разных экспериментальных групп:

a — животные, содержавшиеся при естественном освещении; δ — животные, содержавшиеся при естественном освещении и получавшие мелатонин; ϵ — животные, содержавшиеся в условиях затемнения; ϵ — животные, содержавшиеся в условиях затемнения и получавшие мелатонин

Оптическая плотность серотонина снижается в нейроэндокринных клетках коркового вещества в 2,4 раза, а в кортикомедуллярных нейроэндокринных клетках содержание серотонина не меняется (см. табл. 3). Одновременно происходят уменьшение количества лимфоцитов в корковом и мозговом веществе долек и увеличение содержания серотонина в лимфоцитах коркового вещества (рис. 12).

При введении мелатонина животным, находившимся в условиях естественного освещения (II экспериментальная группа), наблюдается увеличение оптической плотности серотонинпозитивных клеток ДЭС коркового вещества долек в 1,9 раза, а их

количество имеет тенденцию к увеличению. Оптическая плотность серотонина в клетках на границе коркового и мозгового вещества увеличивается в 1,5 раза, а в их микроокружении значимых изменений не претерпевает (см. табл. 3). Содержание серотонина в лимфоцитах коркового и мозгового вещества долек возрастает, но количество лимфоцитов в мозговом веществе снижается, а в корковом веществе значительно не меняется.

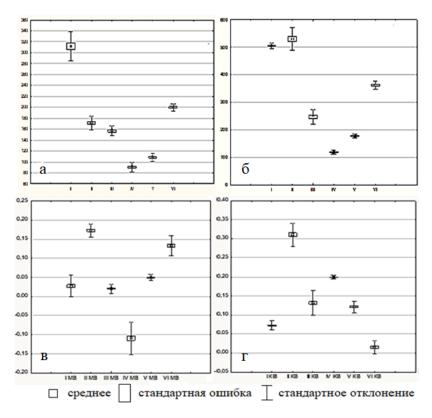


Рис. 12. Изменение количества и оптической плотности серотонина лимфоцитов мозгового $(a, \, в)$ и коркового $(\delta, \, \epsilon)$ вещества долек тимуса крыс Wistar, получавших мелатонин в разных световых условиях: $a, \, \delta$ по оси ординат — количество клеток, по оси абсцисс — номер экспериментальной группы; $s, \, \epsilon$ по оси ординат — оптическая плотность, по оси абсцисс — номер экспериментальной группы. Подсчет проводился в участках препарата площадью 13,5 мм²

Таблица 3 Влияние мелатонина на морфологию серотонинпозитивных клеток долек тимуса

Показатель	I	II	III	IV	V	VI
Количество Ser + KB	1,7 ± ± 0,92	3,23 ± ± 1,2**	3,7 ± ± 1,4	1,9 ± ± 0,4*	2,5 ± ± 1,2	3,2 ± ± 0,6**
Оптич. плот. серотонина в Ser + KB	0,15 ± ± 0,02	0,28 ± ± 0,07*	0,06 ± ± 0,08*	0,24 ± ± 0,07*	0,09 ± ± 0,02**	0,29 ± ± 0,01**
Количество Ser + KMГ	7,29 ± ± 1,2	11,25 ± ± 2,4**	5,21 ± ± 0,96	6,25 ± ± 0,75	5,44 ± ± 0,73	14,7 ± ± 1,0**
Оптич. плот. серотонина в Ser + КМГ	0,27 ± ± 0,01	0,4 ± ± 0,007*	0,27 ± ± 0,004	0,31 ± ± 0,003*	0,37 ± ± 0,007*	0,54 ± ± 0,01**
Оптич. плот. серотонина в микроокру- жении Ser + КМГ	0,05 ± ± 0,004	0,04 ± ± 0,002	0,06 ± ± 0,01	0,08 ± ± 0,003**	0,05 ± ± 0,002	0,16± ± 0,001*

^{*} Различия статистически значимы при $p \le 0.5$.

При введении мелатонина животным, находившимся в условиях затемнения (IV экспериментальная группа), количество серотонинсодержащих клеток ДЭС коркового вещества долек достоверно не меняется, а оптическая плотность серотонина в них резко возрастает – в 3,6 раза. В нейроэндокринных клетках, расположенных на границе коркового и мозгового вещества долек и в их микроокружении, оптическая плотность серотонина возрастает в 1,2 и 1,3 раза соответственно (см. табл. 3). Введение мелатонина снижает уровень серотонина в лимфоцитах мозгового вещества и повышает в лимфоцитах коркового вещества (рис. 13). Количество лимфоцитов в корковом и мозговом веществе тимуса снижается по сравнению с контрольными показате-

^{**} Различия статистически значимы при р ≤ 0.01 в парах: I–II, I–III, I–V, III–IV, V–VI.

лями и с соответствующими показателями у животных, содержавшихся в условиях искусственного затемнения.

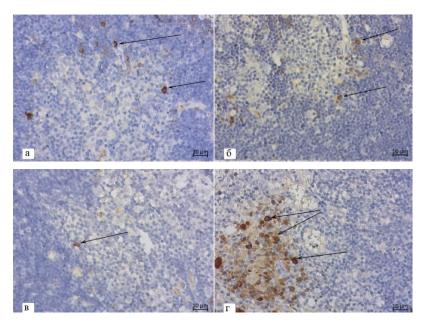


Рис. 13. Серотонинпозитивные клетки (стрелки) на границе коркового и мозгового вещества долек тимуса животных, содержавшихся четыре недели в темноте (a), содержавшихся при постоянном освещении (a) и получавших мелатонин в условиях отсутствия света (a) и при постоянном освещении (a). Иммуногистохимическая реакция на серотонин с использованием моноклональных антител (клон 5HT-H209, DAKO, Дания). Об. 40, ок. 10

Граница коркового и мозгового вещества долек тимуса (в дальнейшем будем называть ее кортико-медуллярной зоной) содержит серотонинпозитивные клетки в 1–2 ряда. В люминесцентногистохимических исследованиях тимуса 70–90-х гг. показано, что в клетках, расположенных на границе коркового и мозгового вещества долек, содержатся катехоламины, серотонин, гистамин (Сергеева В.Е., 1976–1992; Гордон Д.С. и др., 1982; Любовцева Л.А., 1993). Из литературных источников известно, что клетки кортико-медуллярной зоны проявляют

свойства местных биоаминопродуцентов и сочетают в себе свойства макрофагов и клеток APUD-серии (Сергеева В.Е., Гордова В.С., 2019). На периферии и в толще коркового вещества долек тимуса выявляются клетки, содержащие мелкие гранулы, при цитоспектрофлуориметрии в них регистрируются катехоламины и серотонин. В эксперименте с введением вегетотропных веществ было установлено, что клетки коркового вещества долек и тимоцитарная паренхима обладают аминпо-глотительными свойствами и способностью связывать нейромедиаторы. Вместе с клетками кортико-медуллярной зоны они составляют серотонинергическую систему, обеспечивающую местный нейрогуморальный гомеостаз тимуса. Серотонинпо-глощающие клетки коркового вещества тимуса являются морфологическим субстратом, создающим биоаминное микроокружение лимфоцитов тимуса (Сергеева В.Е., Гордова В.С. и др., 2019).

Тимус крысы содержит все компоненты серотонинергической системы: серотонинпродуцирующие клетки, серотонинпоглощающие клетки, рецепторы, ферменты синтеза и мембранные транспортеры. Экспрессия рецепторов предполагает возможность прямого влияния серотонина на развитие и функционирование тимуса.

Отсутствие света не оказывает влияния на синтез серотонина в аминпродуцирующих кортико-медуллярных клетках ДЭС, а постоянное освещение усиливает синтез серотонина в них. В клетках ДЭС коркового вещества наблюдается обратная тенденция: отсутствие света вызывает снижение оптической плотности серотонина, а постоянное освещение не приводит к достоверным изменениям содержания серотонина в вышеназванных клетках (см. прил. 1).

При постоянном освещении уровень серотонина и в аминпродуцирующих клетках границы коркового и мозгового вещества долек, и аминпоглощающих лимфоцитах повышается, так как, возможно, нарушается превращение серотонина в мелатонин. В исследованиях, где животные были помещены в условия со смещением фотопериода в сторону длинного светового дня, наблюдается уменьшение секреции экстрапениального мелатонина в тимусе, что соотносится с нашими данными (Gupta S., Haldar C., 2015).

При постоянном затемнении уровень серотонина в клетках коркового вещества долек снижается. Причиной этого могло бы быть усиление экзоцитоза серотонина вышеназванными клетками, но в микроокружении клеток ДЭС коркового вещества уровень серотонина значимо не меняется (см. табл. 3). Следовательно, либо снижается серотонинпоглощение, либо усиливается превращение серотонина в мелатонин.

Отсутствие фотопериода (постоянное освещение и постоянное затемнение) приводит к увеличению оптической плотности серотонина в лимфоцитах коркового вещества и уменьшению количества лимфоцитов. Известно, что повышенный уровень серотонина и сниженный уровень мелатонина в лимфоидных тканях сопровождаются снижением пролиферации и активацией апоптоза лимфоцитов (Gupta S., Haldar C., 2015). Возможно, фотопериод модулирует работу серотонинергической системы тимуса, регулируя экспрессию серотониновых рецепторов так же, как модулирует экспрессию мелатониновых рецепторов (Gupta S., Haldar C., 2014; Liu J. et al., 2004) путем изменения содержания серотонина в тканях.

Введение экзогенного мелатонина в условиях естественной смены дневного и ночного освещения приводит к усилению серотонинпродукции нейроэндокринными клетками на границе коркового и мозгового вещества долек и серотонинпоглощения тимоцитарной паренхимой и нейроэндокринными клетками коркового вещества. Экзогенный мелатонин, поступающий в организм при постоянном затемнении, стимулирует серотонинпродукцию клетками кортико-медуллярных зон тимусных долек; одновременно повышается содержание серотонина в их микроокружении, свидетельствующее об активной секреции серотонина. Увеличение оптической плотности серотонина клетками ДЭС и лимфоцитами коркового вещества долек тимуса может свидетельствовать об активации серотонинпоглощения.

Мелатонин, поступающий в организм при постоянном освещении, также стимулирует синтез серотонина в клетках ДЭС

кортико-медуллярной зоны долек, одновременно увеличивается содержание серотонина в серотонинпоглощающих клетках ДЭС и тимоцитах коркового вещества.

Таким образом, независимо от фотопериода, экзогенный мелатонин повышает содержание серотонина в клетках ДЭС тимуса, особенно в условиях постоянного освещения.

Отсутствие света не оказывает влияние на синтез серотонина в аминпродуцирующих клетках диффузной эндокринной системы границы коркового и мозгового вещества долек, но подавляет аминпоглотительные свойства клеток диффузной эндокринной системы коркового вещества долек тимуса.

Постоянное освещение не оказывает влияние на аминпоглотительные свойства клеток диффузной эндокринной системы коркового вещества долек, но способствует накоплению серотонина в аминпродуцирующих клетках границы коркового и мозгового вещества долек тимуса.

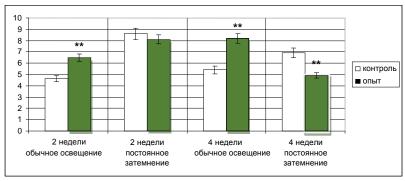
Независимо от фотопериода экзогенный мелатонин повышает содержание серотонина в клетках диффузной эндокринной системы тимуса, что более выражено в условиях постоянного освещения.

Наши результаты следует учитывать при использовании мелатонина для коррекции иммунных и эндокринных нарушений, возникающих при изменении фотопериода.

3.1.4. Катехоламинсодержащие клетки тимуса

Люминесцентно-гистохимический метод Фалька — Хиларпа в модификации Е.М. Крохиной позволяет визуализировать в тимусе мышей на границе коркового и мозгового вещества долек ЛГК КМЗ. Они располагаются в один — два ряда, окружают мозговое вещество непрерывной рамкой. Крупные, полигональной формы клетки с желтовато-белыми гранулами различной величины в цитоплазме содержат катехоламины, серотонин. По периферии коркового вещества долек тимуса видны небольшие беспорядочно располагающиеся ЛГК КВ с мелкими гранулами зеленовато-желтого свечения в цитоплазме. Между ярко светящимися ЛГК тимуса располагаются лимфоциты коркового и мозгового вещества долек.

Изменение интенсивности свечения катехоламинов в ЛГК КВ дольки тимуса при введении мелатонина экспериментальным мышам в различных световых условиях представлено на рис. 14.



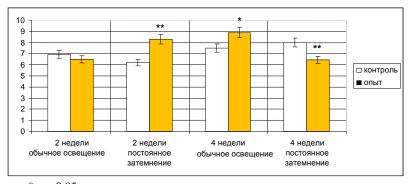
** p < 0,001

Рис. 14. Интенсивность люминесценции катехоламинов в ЛГК коркового вещества долек тимуса экспериментальных мышей, усл. ед.

В работе Шатских О.А. (2015) показано, что поступление мелатонина в организм мышей, независимо от длительности, в условиях естественного фотопериода приводит к увеличению интенсивности люминесценции катехоламинов в ЛГК КВ дольки в 1,4 раза (срок эксперимента -2 недели, p < 0.001) и 1,5 раза (срок эксперимента – 4 недели, p < 0.001) по сравнению с животными контрольных групп. У мышей, получавших гормон в течение месяца в условиях постоянного затемнения, наблюдается иная тенденция: выявляется снижение интенсивности свечения катехоламинов в 1,4 раза в ЛГК КВ (р < 0,001) по сравнению с контрольными мышами. В то же время имеют место различия в показателях люминесценции катехоламинов в данных клетках дольки контрольных мышей, находившихся в условиях постоянного затемнения, где отмечается увеличение интенсивности свечения биоаминов в 1,8 раза (срок эксперимента -2 недели, p < 0.001) и 1,4 раза (срок эксперимента -

4 недели, p < 0.05) по сравнению с мышами, пребывавшими в условиях обычного освещения.

Анализ интенсивности люминесценции катехоламинов в ЛГК на границе коркового и мозгового вещества долек тимуса показывает, что у мышей, получавших мелатонин в течение двух недель в условиях постоянного затемнения, происходит увеличение интенсивности люминесценции катехоламинов в 1,3 раза (р < 0.001) по сравнению с контрольными животными и в 1,2 раза (р < 0.05) у мышей, получавших гормон в условиях обычного освещения в течение четырех недель, по сравнению с контрольными животными (рис. 15).



^{*} p < 0,05 ** p < 0,001

Рис. 15. Интенсивность люминесценции катехоламинов в ЛГК на границе коркового и мозгового вещества долек тимуса экспериментальных мышей, усл. ед.

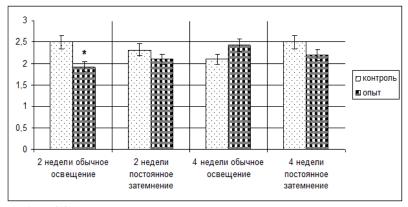
У мышей, которые в течение четырех недель содержались в условиях затемнения (отсутствия фотопериода), наблюдалось снижение интенсивности люминесценции катехоламинов в ЛГК на границе коркового и мозгового вещества дольки тимуса, что составляет $6,44\pm0,23$ усл. ед. (у контрольных мышей – $8,00\pm0,36$ усл. ед., р < 0,001).

Итак, ЛГК КВ долек тимуса более чувствительны к изменению световых условий по сравнению с ЛГК мозгового вещества и кортико-медуллярной зоны долек.

Как видно из графиков, статистически значимое увеличение интенсивности свечения катехоламинов в лимфоцитах коркового вещества дольки тимуса отмечается лишь у мышей, получавших гормон в течение двух недель в условиях обычного освещения, что составляет $1,92\pm0,10$ усл. ед. против $2,50\pm0,15$ усл. ед. у контрольных животных (p < 0,05) (Шатских O.A., 2011).

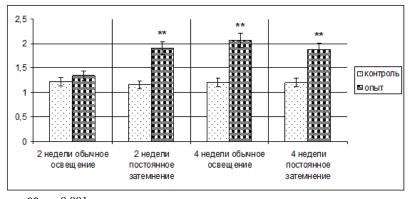
В лимфоцитах мозгового вещества долек тимуса животных, получавших мелатонин в условиях постоянного затемнения независимо от длительности поступления гормона, регистрируется увеличение интенсивности свечения катехоламинов в 1,6 раза (р < 0,001) по сравнению с контрольными мышами, и в 1,7 раза (р < 0,001) у мышей, получавших мелатонин в течение четырех недель в условиях обычного освещения.

Изменение интенсивности люминесценции катехоламинов в лимфоцитах коркового и мозгового вещества долек экспериментальных мышей представлено на рис. 16, 17.



p < 0.05

Рис. 16. Интенсивность люминесценции катехоламинов в лимфоцитах коркового вещества долек тимуса экспериментальных мышей, усл. ед.



** p < 0.001

Рис. 17. Интенсивность люминесценции катехоламинов в лимфоцитах мозгового вещества долек тимуса экспериментальных мышей, усл. ед.

Таким образом, изменение фотопериода не влияет на метаболизм катехоламинов в тимических лимфоцитах, но, вероятно, аминопоглотительные свойства лимфоцитов мозгового вещества под действием экзогенного мелатонина усиливаются.

3.1.5. Взаимосвязь биогенных аминов в клетках тимуса экспериментальных мышей

Нами выявлено, что доминирующим биогенным амином в структурах тимуса является гистамин. Введение мелатонина на всех сроках эксперимента и независимо от световых условий приводит к снижению интенсивности свечения гистамина в структурах тимуса мышей, но при этом его уровень продолжает превалировать над интенсивностью свечения серотонина и катехоламинов.

Колебания интенсивности свечения катехоламинов и серотонина в ЛГК КВ, ЛГК на границе коркового и мозгового вещества дольки и лимфоцитах мозгового вещества дольки носят практически идентичный характер на всех сроках введения мелатонина в различных световых условиях.

Был определен серотониновый индекс ($J_{\text{C/KA}}$) для выявления доминирующего биоамина в паре серотонин-катехоламины (табл. 4, 5). Серотониновый индекс больше единицы свидетельствует о преобладании в клетке серотонина, что связано с его интенсивным синтезом или накоплением, а меньше единицы — о преобладании в клетке катехоламинов, что обусловлено сниженным синтезом серотонина или усиленным его катаболизмом (Лузикова Е.М., 2008).

Таблица 4 Результаты анализа значений серотонинового индекса ($J_{\text{C/KA}}$) в клетках тимуса экспериментальных мышей (срок эксперимента – 2 недели)

	Группа экспериментальных мышей					
Клетки		е условия цения	Условия постоянного затемнения			
	1-я кон- трольная группа	1-я опыт- ная группа (мелато- нин)	2-я кон- трольная группа	2-я опыт- ная группа (мелато- нин)		
ЛГК КВ долек	0,99	1,11	0,88	1,00		
ЛГК на границе коркового и мозгового вещества долек	0,99	0,98	1,03	1,01		
Лимфоциты коркового вещества долек	0,72	0,88	0,73	0,95		
Лимфоциты мозгового вещества долек	1,00	0,85	0,98	0,95		

Данные, приведенные в табл. 4, 5, свидетельствуют, что у мышей, находившихся в условиях естественного фотопериода в течение двух и четырех недель, значение серотонинового индекса колеблется от 0,72 до 1,00. У мышей, находившихся в ус-

ловиях отсутствия фотопериода, серотониновый индекс колеблется в интервале от 0,73 до 1,03.

Таблица 5 Результаты анализа значений серотонинового индекса ($J_{\text{C/KA}}$) в клетках тимуса экспериментальных мышей (срок эксперимента – 4 недели)

	Группа экспериментальных мышей					
Клетки		е условия цения	Условия постоянного затемнения			
	3-я кон- трольная группа	3-я опыт- ная группа (мелато- нин)	4-я кон- трольная группа	4-я опыт- ная группа (мелато- нин)		
ЛГК КВ долек	0,98	1,01	1,01	1,03		
ЛГК КМЗ долек	0,97	1,01	0,93	1,01		
Лимфоциты кор- кового вещества долек	0,95	1,03	0,83	1,04		
Лимфоциты мозгового вещества долек	1,00	1,02	1,00	1,01		

Стоит отметить, что мелатонин, ежедневно вводимый животным при разных световых условиях в течение двух и четырех недель, отменяет резкие колебания серотонинового индекса в клетках тимической дольки мышей.

Отмечается незначительное преобладание серотонина над катехоламинами в лимфоцитах коркового и мозгового вещества дольки на 4-й неделе после введения гормона в различных световых условиях. Больше единицы серотониновый индекс фиксируется в ЛГК КВ долек мышей, получавших мелатонин независимо от длительности в условиях обычного освещения и в течение четырех недель в условиях постоянного затемнения. В ЛГК на границе коркового и мозгового вещества серотониновый индекс больше единицы определяется у животных, по-

лучавших гормон в течение четырех недель независимо от условий освещения и в течение двух недель в условиях постоянного затемнения.

Итак, введение мелатонина нивелирует резкие колебания значений серотонинового индекса в клетках тимусной дольки мышей, получавших мелатонин при естественном фотопериоде и его отсутствии.

Результаты корреляционного анализа биоаминобеспеченности структур тимуса мышей опытных и контрольных групп представлены в табл. 6. Анализ конкурентных взаимоотношений между серотонином и катехоламинами контрольных животных, находившихся в условиях обычного освещения в течение двух и четырех недель, показал наличие прямых сильных корреляционных связей в ЛГК КВ дольки ($\mathbf{r}=0.80$ и $\mathbf{r}=0.87$ соответственно, $\mathbf{p}<0.05$), прямой умеренной и сильной связи в ЛГК на границе коркового и мозгового вещества ($\mathbf{r}=0.52$ и $\mathbf{r}=0.83$ соответственно, $\mathbf{p}<0.05$), слабых прямых корреляционных связей в лимфоцитах коркового вещества дольки ($\mathbf{r}=0.33$ и $\mathbf{r}=0.48$ соответственно, $\mathbf{p}<0.05$) и лимфоцитах мозгового вещества дольки ($\mathbf{r}=0.35$, $\mathbf{p}<0.05$).

Таблица 6 Результаты корреляционного анализа в паре серотонин – катехоламины в структурах тимуса экспериментальных мышей

Корреляци-	Коэффициент корреляции							
онные пары	1 - к	1- o	2 - κ	2 - o	3 - к	3 - 0	4 - κ	4 - o
ЛГК КВ	0,80*	0,85*	0,95*	0,90*	0,87*	0,86*	0,76*	0,89*
ЛГК КМЗ	0,52*	0,83*	0,21	0,89*	0,83*	0,95*	0,93*	0,74*
ЛКВ	0,33*	0,37*	0,20	0,35*	0,48*	0,50*	0,59*	0,55*
ЛМВ	0,35*	0,60*	0,14	0,48*	0,35*	0,56*	0,10	0,46*

p < 0.05

Характер иммуномодулирующего действия мелатонина находится в зависимости от дозировки, длительности введения,

исходного состояния организма (Carrillo-Vico A. et al., 2013) и условий обычного светового режима.

В работе Литвиненко Г.И. с соавт. (2015) констатируется, что ежедневное введение мелатонина крысам в условиях естественного фотопериода приводит к снижению количества CD4+8+лимфоцитов селезёнки и CD4-8+-лимфоцитов тимуса. Напротив, в условиях круглосуточного освещения (модель гипомелатонинемии) под действием гормона в селезёнке возрастает количество CD4+8+-клеток, снижается количество CD4-8+-лимфоцитов, а в тимусе увеличивается количество CD4-8+-лимфоцитов (Шатских О.А., 2015).

Данные о дозозависимом эффекте мелатонина на иммунную систему, имеющие место в современной литературе, достаточно противоречивы (Каладзе Н., Соболева Е.М. и др., 2010; Лузикова Е.М., Оганесян Л.В. и др., 2018; Погожаева Е.Ю. и др., 2008; Currier N.L. et al., 2000; Sasaguri K., Yamada K. et al., 2017; Garcia-Maurino S. et al., 1999; Raghavendra V. et al., 2001; Saez M.C. et al., 2005; Jimenez-Caliani A.J. et al., 2006; Berk L. et al., 2007).

Настоящее исследование позволило обнаружить ряд изменений, включающих морфологические характеристики долек тимуса лабораторных мышей, качественные и количественные изменения CD1a-, CD3-, CD57- и CD68-позитивных клеток, тучных клеток в зависимости от длительности введения мелатонина и условий освещения, в которых находились экспериментальные группы животных. Отличительной чертой нашей работы является определение взаимосвязи между показателями интенсивности люминесценции гистамина, серотонина и катехоламинов в моделируемых условиях эксперимента.

Введение мелатонина в различных световых условиях экспериментальным животным приводит к изменениям морфометрических параметров долек тимуса. Уже на 2-й неделе поступления гормона в организм лабораторных мышей снижается соотношение S коркового вещества/S мозгового вещества по отношению к данному показателю у контрольных животных $(3,84\pm0,11\ u\ 4,81\pm0,12\ b\ oбычных\ условиях;\ 3,35\pm0,10\ u\ 4,41\pm0,08,\ p<0,001\ b\ условиях\ постоянного затемнения).$

На 4-й неделе введения гормона в различных световых условиях структурные изменения начинают носить более выраженный характер, что проявляется сужением коркового вещества (в 1,5 раза в обычных условиях, в 1,4 раза в условиях отсутствия фотопериода, р < 0,001), параллельным увеличением площади мозгового вещества дольки (в 2,0 раза в обычных условиях, в 2,3 раза в условиях постоянного затемнения, р < 0,001), снижением соотношения $S\kappa.B / Sm.B$ (с 4,74 ± 0,14 до 1,77 ± 0,07 в обычных условиях, с 5,11 ± 0,12 до 1,83 ± 0,10, р < 0,001 в условиях постоянного затемнения) (Шатских O.A., 2015).

В исследованиях Ozkanlar S. с соавт. (2015) также показано снижение корково-мозгового соотношения в тимусе крыс, страдающих диабетом, после ежедневных внутрибрюшинных инъекций мелатонина в дозе 10 мг/кг в течение 15 дней. При изучении препаратов тимуса мышей, окрашенных гематоксилинэозином, в мозговом веществе долек наблюдается увеличение количества эозинофилов под действием мелатонина, которые практически отсутствуют в мозговом веществе долек контрольных животных.

Rothenberg M.E. и Hogan S.P. (2006) отмечают, что продукция эозинофилов имеет суточные колебания и максимальна в ночное время, то есть совпадает с пиками мелатонина в плазме. Lissoni Р. с соавт. (1993, 1998) уверены, что введение мелатонина пациентам в комбинации с IL-2 увеличивает количество эозинофилов в крови. Также известно, что эозинофилы, наряду с тучными клетками и натуральными киллерами, являются экстрапинеальными источниками синтеза мелатонина (Calvo J.R. et al., 2013), при этом биологическое действие гормона оказывается непосредственно там, где он синтезируется (Каладзе Н.Н. и др., 2010). Эозинофилы могут поглощать мелатонин из крови и межклеточного пространства и транспортировать гормон в те участки, где он проявляет свое присутствие (Звягинцева Т.Д., Гаманенко Я.К., 2012). Увеличение количества эозинофилов в тимусе мышей под действием эпифизарного гормона, возможно, объясняется участием данных клеток в локальной координации межклеточных взаимоотношений в органе посредством мелатонина.

Тучные клетки наряду с моноцитами — одни из первых звеньев иммунной системы, которые взаимодействуют с антигенами внешней и внутренней среды (Tsai M. et al., 2011). Тучные клетки могут функционировать и как эффекторные, и как иммунорегуляторные клетки (Galli S.J. et al., 2005; Dawicki W. et al., 2007; Abraham S.N. et al., 2010). Тучные клетки обладают способностью регулировать переход от врожденного к приобретенному иммунному ответу посредством влияния на пролиферацию, дифференцировку, миграцию и функционирование иммунокомпетентных клеток: макрофагов, натуральных киллеров, В- и Т-лимфоцитов (Galli S.J. et al., 2005; Dawicki W. et al., 2007; Galli S.J. et al., 2008; Tsai M. et al., 2011).

Морфо-физиологическая реакция тучных клеток на изменение гомеостаза в ткани проявляется в изменении их количества, степени дегрануляции. Даже полностью дегранулированные клетки сохраняют жизнеспособность (Кондрашевская М.В., 2010).

Тучные клетки в тимусе лабораторных крыс и мышей локализуются преимущественно в капсуле, септах, корковом веществе долек (Гордон Д.С., Сергеева В.Е., Зеленова И.Г. 1982; Лузикова Е.М., Гордова В.С., и др., 2017). Сходные результаты по локализации тучных клеток были получены в работах Гусельниковой В.В. с соавт. (2013) в тимусе нелинейных мышей. Известно, что источниками иннервации тимуса являются блуждающий нерв и симпатические нервы, идущие от верхнего шейного и звездчатого ганглиев (Сергеева В.Е., Гордон Д.С., 1974; Таюшев К.Г., 1990). Симпатическая обильная иннервация наблюдается в капсуле, септах, по ходу сосудов, в корковом веществе, мозговое вещество иннервировано слабо (Гордон Д.С. и др., 1982; Сергеева В.Е., Гордон Д.С., 1992). В тимусе мышей тучные клетки локализуются около окончаний нервных волокон, часть из которых является адренергическими (Гусельникова В.В. и др., 2014; Гусельникова В.В., 2016), из-за чего в ответ на действие различных факторов клетки активно участвуют в формировании адаптивных реакций организма (Khramtsova Y.S. и др., 2019; Сергеева В.Е., Гордова В.С., Гордон Д.С., 2017; Гордова В.С. и др., 2018).

Как видно из результатов исследования, содержание контрольных мышей в условиях отсутствия фотопериода в течение четырех недель приводит к увеличению в тимусе количества тучных клеток и степени их дегрануляции, что свидетельствует об усиленном вовлечении исследуемых клеток в метаболические процессы, несущие компенсаторно-приспособительный характер. Увеличение количества тучных клеток является следствием как усиления пролиферации клеток в самом тимусе (Гусельникова В.В. и др., 2014), так и миграции их из других органов (Юшков Б.Г., 2017).

Введение мелатонина в различных условиях освещения в течение двух и четырех недель, по нашему мнению, приводит к стабилизации мембран клеток (увеличивается количество клеток с плотным расположением гранул в цитоплазме). Данный факт можно объяснить цитопротективным действием фармакологических доз мелатонина на тучные клетки (Maldonado M.D. et al., 2013). Клеточная защита мелатонином может быть опосредована как за счет накопления гормона в гранулах, так и за счет ингибирования клеток через рецепторы MT_1 и MT_2 (Reiter R.J. et al., 2000; Maldonado M.D. et al., 2016). Таким образом, ингибируется активация на раздражители различного генеза. В исследовании Contuk G. с соавт. (2005) также показано снижение количества дегранулирующих форм тучных клеток под действием мелатонина.

Для тучных клеток характерна способность к захвату мелатонина из межклеточного пространства и плазмы крови и переносу его к участкам, где гормон реализует свои эффекты (Беленичев И.Ф. и др., 2003; Maldonado M.D. et al., 2010). Возможно, этим объясняется прямопропорциональная зависимость между количествами тучных клеток, макрофагов и натуральных киллеров. Все эти клетки содержат рецепторы к мелатонину (Garcia-Maurino S. et al., 2000).

Необходимо отметить, что на всех сроках введения мелатонина, независимо от условий освещения, отмечается тенденция к увеличению степени сульфатированности кислых мукополисахаридов гранул тучных клеток тимуса опытных животных, что также указывает на увеличение содержания в них гепарина,

количество которого прямо пропорционально количеству гистамина (Гордон Б.М., 2000; Дьячкова И.М. и др., 2010; Кондрашевская М.В., 2010).

В формировании местного гомеостаза, регуляции процессов пролиферации и апоптоза иммунных клеток большое значение играют биогенные амины, такие как гистамин, серотонин и катехоламины (Репина В.П., 2008; Ставинская О.А., 2008).

Гранулярные клетки на границе коркового и мозгового вещества дольки тимуса относятся к клеткам диффузной эндокринной системы, имеют макрофагальную природу и способны продуцировать биогенные амины (серотонин и катехоламины). В субкапсулярной зоне люминесцирующие клетки являются типичными макрофагами, не способными к синтезу биоаминов, но являющимися аминопоглотителями. Лимфоцитарная паренхима тимуса также проявляет функции биоаминопоглотителей (Сергеева В.Е., Гордон Д.С., 1992; Ялалетдинова Л.Р., Гордова В.С. и др., 2017; Бибик Е.Ю. и др., 2011) и обладает свойством связывать нейромедиаторы (Елисеева Л.С. и др., 1982). Другими словами, данные клетки принимают активное участие в создании фона биогенных аминов в тимусе.

Доминирующим биогенным амином как у контрольных животных, так и у мышей, получавших мелатонин в разных световых условиях, является гистамин. Иммуномодулирующие свойства гистамина определяются его концентрацией и типом активированного рецептора. Макрофаги, Т-хелперы, Т-киллеры, Т-памяти, В-памяти чувствительны к гистамину (O'Mahony L. et al., 2011; Ferstl R. et al., 2012). Гистамин оказывает эффект на регуляцию Т-клеточного ответа: активизирует Th-2 путь и ингибирует Th-1 ответ (Packard K.A. et al., 2003). Избыточное содержание данного биоамина вызывает иммуносупрессивный эффект (Hellstrand K. et al., 1993; Kmiecik T. et al., 2012).

Мелатонин, независимо от длительности и условий освещения, приводит к снижению содержания гистамина в биоаминсодержащих клетках тимусной дольки, то есть происходит ослабление иммуносупрессорного действия данного биоамина на структуры тимуса. Основным источником гистамина в организме являются тучные клетки (Truta-Feles K. et al.,

2010; Smolinska S. et al., 2014). Снижение содержания данного биоамина в иммунокомпетентных клетках тимуса мышей, получавших мелатонин в течение двух и четырех недель в условиях различного освещения, может быть связано с увеличением числа тучных клеток без признаков дегрануляции и эозинофилов.

Отсутствие фотопериода в течение двух и четырех недель увеличивает интенсивность свечения гистамина, что связано с усиленной дегрануляцией тучных клеток и выходом биогенного амина, что подтверждается в нашей работе.

Серотонин в большом количестве определяется в тимусе, особенно в макрофагах на границе коркового и мозгового вещества долек тимуса (Сергеева В.Е., Гордон Д.С., 1992).

Развивающийся тимус плодов крысы содержит все компоненты серотонинергической системы: рецепторы, ферменты синтеза и мембранные транспортеры. Экспрессия рецепторов предполагает возможность прямого влияния серотонина на развитие тимуса. Присутствие триптофан-гидроксилазы (ключевого ограничивающего скорость фермента синтеза серотонина) и ароматической декарбоксилазы 1-аминокислоты указывает на способность клеток тимуса плода синтезировать серотонин. Было показано, что клетки развивающегося тимуса могут активно поглощать внеклеточные моноамины. Результаты этого исследования свидетельствуют о различных функциях внутритимического и циркулирующего серотониновых пулов в регуляции развития тимуса (Lifantseva N.V., Koneeva T.O. et al., 2017). Серотонин проявляет митогенное действие и регулирует пролиферативную активность эпителиальных, эндотелиальных и лимфоидных клеток (Трофимов А.В. и др., 2005). Избыток серотонина свидетельствует об иммуносупрессии (Альперина Е.Л., 1998), высокие концентрации данного биоамина подавляют пролиферативную активность Т-лимфоцитов (Ставинская О.А., Репина В.П., 2009). В работах Kut J.L. et al. (1992) и Young M.R. et al. (1993) доказан дозозависимый эффект экзогенного серотонина: низкие дозы стимулируют Т-лимфоциты, в то время как высокие концентрации этого биоамина обладают иммуносупрессивным эффектом.

Катехоламины обладают модулирующим действием на иммунную систему. Путем стимуляции адренорецепторов катехоламины оказывают воздействие на миграцию, циркуляцию и пролиферацию лимфоцитов, определяют синтез цитокинов и активность клеток лимфоидного ряда (Забродский П.Ф. и др., 2001).

Нами выявлены прямые сильные корреляционные связи между катехоламинами и серотонином в люминесцирующих гранулярных клетках на границе коркового и мозгового вещества, а также коркового вещества тимусной дольки.

Однонаправленное изменение уровней свечения серотонина и катехоламинов в люминесцирующих структурах тимуса наблюдалось в серии экспериментов Сергеевой В.Е., Гордон Д.С. (1992) как реакция на введение асцитной опухоли, а также при хроническом введении АКТГ1-24 (Лузикова Е.М., Сергеева В.Е., 2008).

Содержание серотонина в люминесцирующих гранулярных клетках долек в 2–3 раза выше, чем в лимфоцитах коркового и мозгового вещества долек тимуса, как у контрольных, так и у опытных мышей, что свидетельствует о том, что при введении мелатонина у люминесцирующих гранулярных клеток сохраняется функция депонирования этого нейромедиаторного биогенного амина.

Введение мелатонина в течение четырех недель в условиях обычного фотопериода приводит к увеличению люминесценции серотонина и катехоламинов в люминесцирующих гранулярных клетках коркового вещества и на границе коркового и мозгового вещества дольки, а введение в условиях постоянного затемнения – к снижению свечения данных биоаминов.

При нехватке гистамина последний может замещаться серотонином (Csaba G. et al., 2007), чем также может обусловливаться повышение уровня свечения серотонина в гранулярных люминесцирующих клетках коркового вещества и на границе коркового и мозгового вещества дольки мышей, получавших мелатонин в условиях обычного освещения в течение четырех недель.

В лимфоцитах мозгового вещества, гранулярных люминесцирующих клетках коркового вещества и на границе корко-

вого и мозгового вещества дольки мышей, получавших мелатонин в течение четырех недель в обычных условиях освещения, регистрируется сопряженное с серотонином увеличение свечения катехоламинов. Повышение обеспеченности структур тимуса катехоламинами можно рассматривать как стимуляцию иммунных процессов, так как известно, что катехоламины способны усиливать пролиферативную активность лимфоцитов (Шатских О.А., 2015).

В работе Шатских О.А. (2015) у мышей, получавших мелатонин в течение двух и четырех недель в обычных световых условиях, в ЛГК КВ дольки также определяются сильные прямые корреляционные связи в паре серотонин – катехоламины (r = 0.85 и r = 0.86 соответственно, p < 0.05), сильные прямые связи в ЛГК на границе коркового и мозгового вещества дольки (r = 0.83 и r = 0.95 соответственно, p < 0.05), слабые прямые корреляционные связи в лимфоцитах коркового вещества (r = 0.37 и r = 0.50 соответственно, p < 0.05) и умеренные в лимфоцитах мозгового вещества дольки (r = 0,60 и r = 0,56 соответственно, р < 0,05). У контрольных мышей, находившихся в условиях постоянного затемнения в течение двух недель, корреляционная связь сохраняется лишь в ЛГК КВ дольки и является сильной прямой ($\hat{r} = 0.95$, p < 0.05). На 4-й неделе постоянного затемнения у контрольных животных появляется сильная прямая корреляционная связь в ЛГК на границе коркового и мозгового вещества дольки (r = 0.93, p < 0.05) и умеренная прямая связь в лимфоцитах коркового вещества (r = 0.59, p < 0.05), а в ЛГК КВ дольки корреляционная связь продолжает сохраняться прямой и сильной (r = 0.76, p < 0.05). Введение мелатонина мышам в течение двух и четырех недель в условиях затемнения вызывает появление слабых прямых корреляционных связей в лимфоцитах мозгового вещества дольки (r = 0.48 и r = 0.46 соответственно, p < 0.05), слабой (r = 0.35, p < 0.05) и умеренной (r = 0.55, p < 0.05) прямых корреляционных связей в лимфоцитах коркового вещества дольки (r = 0.52 и r = 0.83 соответственно, р < 0.05). В ЛГК КВ и ЛГК коркового и мозгового вещества дольки регистрируются прямые сильные корреляционные связи r = 0.90 (p < 0.05) и r = 0.89 (p < 0.05), r = 0.89 (p < 0.05) и r = 0,74 (p < 0,05) соответственно. Характер корреляционных связей по содержанию серотонина и катехоламинов в структурах тимуса при поступлении мелатонина в организм лабораторных мышей в различных световых условиях в течение двух и четырех недель отражает тесную сопряженность уровней свечения данных биоаминов между собой.

Таким образом, наши экспериментальные данные показывают, что ежедневное введение мелатонина в течение двух и четырех недель оказывает иммуномодулирующее действие на тимус, характер которого находится в определенной зависимости от условий освещения, в которых находились животные. При этом важная роль в данном процессе принадлежит биогенным аминам.

3.2. Тучные клетки тимуса

Для изучения особенности влияния мелатонина в обычных световых условиях и условиях постоянного затемнения на тучные клетки срезы тимуса экспериментальных мышей окрашивались полихромным толуидиновым синим по Унна. Метод основан на использовании спиртового раствора двух красителей — метиленового синего и полихромного толуидинового синего. Сочетание этих двух красителей позволяет одномоментно и оценить количественное распределение тучных клеток по зонам тимусной дольки, и получить представление о степени сульфатированности кислых мукополисахаридов в гранулах тучных клеток.

По состоянию мукополисахаридов тучные клетки оценивались следующим образом (Гордон Д.С., 1982):

- α ортохромные тучные клетки с голубой окраской цитоплазмы;
- β_1 метахроматичные тучные клетки с гранулами темносинего цвета;
- β_2 метахроматичные тучные клетки, имеющие фиолетовую окраску гранул;
- β_3 метахроматичные тучные клетки с красно-фиолетовыми гранулами.

По степени дегрануляции, согласно классификации Линднер Д.П. (1989) и Стручко Г.Ю. (1999), выделяют следующие формы тучных клеток:

 T_0 формы — гранулы расположены плотно в цитоплазме, ядро клетки визуально не определяется;

 T_1 формы — ядро просматривается хорошо, гранулы располагаются внутри клетки, за пределы цитоплазматической мембраны не выходят;

 T_2 формы — гранулы частично выходят за пределы неповрежденной цитоплазматической мембраны;

 T_3 формы — полностью дегранулированные, опустошенные клетки, либо с разорванной цитоплазматической мембраной.

Тучные клетки тимуса экспериментальных мышей локализуются в септах, капсуле и корковом веществе долек.

У мышей контрольных групп тучные клетки имеют полигональную форму. Тучные клетки имеют хорошо определяемые гранулы, не выходящие за пределы цитоплазматической мембраны (рис. 18 a, δ). Отличительной визуальной особенностью тучных клеток мышей, получавших мелатонин, является их округло-овальная форма, ядра не визуализируются (рис. 18 ϵ , ϵ).

Обращает на себя внимание, что количество тучных клеток под воздействием мелатонина, независимо от срока воздействия и фотопериода, претерпевает определенные изменения (см. табл. 7).

В работах Шатских О.А. (2013–2015 гг.) выявлено, что введение мелатонина экспериментальным мышам в условиях отсутствия фотопериода в течение четырех недель приводит к увеличению количества тучных клеток в септах в 1,5 раза, что составляет $6,42\pm0,22$ клеток в поле зрения (против $4,42\pm0,25$ клеток в поле зрения у 4-й контрольной группы, р < 0,001).

В работах Шатских О.А. (2013–2015 гг.) выявлено, что введение мелатонина экспериментальным мышам в условиях отсутствия фотопериода в течение четырех недель приводит к увеличению количества тучных клеток в септах в 1,5 раза, что составляет $6,42\pm0,22$ клеток в поле зрения (против $4,42\pm0,25$ клеток в поле зрения у 4-й контрольной группы, р < 0,001).

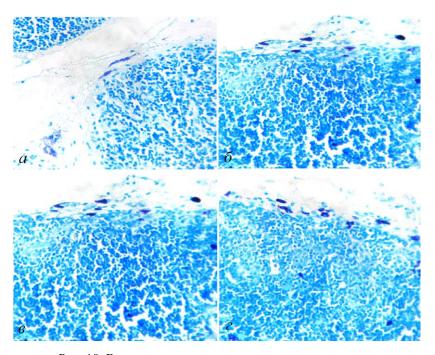


Рис. 18. Влияние мелатонина на тучные клетки тимуса при естественном фотопериоде. Окраска полихромным толуидиновым синим по Унна. Микроскоп МИКМЕД-5. Об. 40. Ок. 10: а, б — тимус мыши контрольной группы, находившейся в течение четырех недель в условиях обычного освещения и постоянного затемнения соответственно; в, г — тимус мыши опытной группы, получавшей мелатонин в течение четырех недель в условиях обычного освещения и постоянного затемнения соответственно. 1 — тучные клетки

Обращает на себя внимание факт наличия достоверных различий в количестве тучных клеток между группами животных, содержавшихся в разных условиях освещения. Так, в соединительнотканных корковых перегородках количество тучных клеток в условиях постоянного затемнения выросло в 1,5 раза (p < 0.001), а в паренхиме — в 1,6 раза (p < 0.05).

На характер распределения тучных клеток между корковыми перегородками и паренхимой тимуса ни введение мелатонина, ни световые условия влияния не оказывают.

Таблица 7

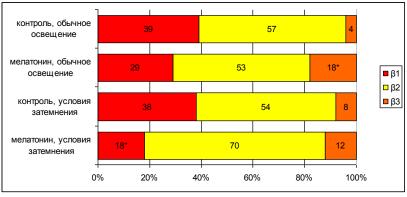
Количество тучных клеток в тимусе (в поле зрения при увеличении $\times 400$) экспериментальных мышей при введении мелатонина в различных световых условиях ($M\pm m$)

	Группа экспериментальных мышей						
Параметр	Срок эксперимента – 2 недели						
		е условия щения	Условия постоянного затемнения				
	1-я кон- трольная группа	1-я опытная группа (мелатонин)	2-я кон- трольная группа	2-я опытная группа (мелатонин)			
Корковые перегородки тимуса	2,64±0,22	3,14±0,20	2,48±0,21	3,50±0,22*			
Паренхима тимуса	1,80±0,24	2,24±0,22	2,04±0,18	2,58±0,20*			
	Срок эксперимента – 4 недели						
Параметр		іе условия щения	Условия постоянного затемнения				
Параметр	3-я кон-	3-я опытная	4-я кон-	4-я опытная			
	трольная группа	группа (мелатонин)	трольная группа	группа (мелатонин)			
Корковые перегородки тимуса	2,78±0,18	3,68±0,29*	4,42±0,25	6,42±0,22**			
Паренхима тимуса	1,88±0,19 2,58±0,21*		2,86±0,24	3,60±0,22*			

p < 0.05

Распределение тучных клеток по степени метахромазии в соединительнотканных корковых перегородках и в паренхиме тимуса на сроке воздействия гормона в течение двух недель приведено на рис. 19.

^{**} p < 0.001



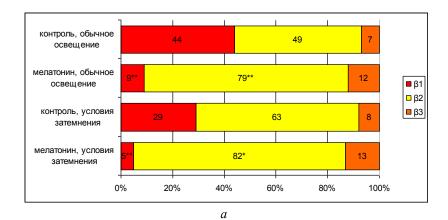
* p < 0.05

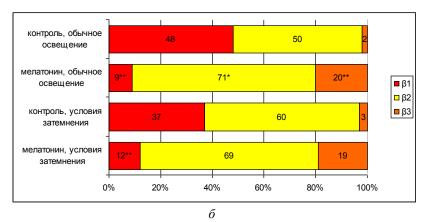
Рис. 19. Характеристика тучных клеток по степени метахромазии в тимусе экспериментальных мышей при введении мелатонина в течение двух недель в различных световых условиях, %: a- в соединительнотканных корковых перегородках; $\delta-$ в паренхиме тимуса

В условиях постоянного затемнения под действием мелатонина у мышей 2-й опытной группы в корковых перегородках уменьшается доля тучных клеток с β_1 -метахромазией с 38 до 18 % (p < 0,05), а в паренхиме тимуса увеличивается доля клеток с β_3 -метахромазией с 2 до 11 % (p < 0,05) (Шатских О.А., 2015).

Распределение тучных клеток по степени метахромазии в соединительнотканных корковых перегородках и в паренхиме тимуса на сроке воздействия в течение четырех недель приведено на рис. 20.

Степень метахромазии тучных клеток под действием ежедневного 4-недельного введения мелатонина возрастает. В корковых перегородках происходит увеличение доли тучных клеток с β_2 -метахромазией до 79 % (против 49 % животных 3-й контрольной группы, р < 0,001) за счет уменьшения доли β_1 -метахроматичных клеток до 9 % (против 44 % у животных 3-й контрольной группы, р < 0,001). В паренхиме тимуса также отмечается снижение доли β_1 -метахроматичных тучных клеток до 9 % (против 48 % у животных 3-й контрольной группы, р < 0,001) за счет увеличения доли клеток с β_2 и β_3 степенью метахромазии до 71 (р < 0,05) и 20 % (р < 0,001) соответственно.





** p < 0,001

Рис. 20. Характеристика тучных клеток по степени метахромазии в тимусе экспериментальных мышей при введении мелатонина в течение четырех недель в различных световых условиях, %: a- в соединительнотканных корковых перегородках, $\delta-$ в паренхиме тимуса

Экзогенный мелатонин, вводимый в течение четырех недель, способствует увеличению числа метахроматичных тучных клеток в условиях постоянного затемнения (Шатских О.А., 2015). Так, в корковых перегородках доля β_1 -метахроматичных клеток имела тенденцию к уменьшению и составила 5% (против

29% у мышей 4-й контрольной группы, р < 0,001). Доля β_2 -метахроматичных тучных клеток, напротив, имела тенденцию к увеличению и достигла 82% (против 63% у животных 4-й контрольной группы, р < 0,05), доля тучных клеток с β_3 -метахромазией составила 13%. В паренхиме тимуса также отмечается снижение доли β_1 -метахроматичных тучных клеток до 12% (против 37% у мышей 4-й контрольной группы, р < 0,001), доля клеток с β_2 - и β_3 -метахромазией составляет 69 и 19% соответственно.

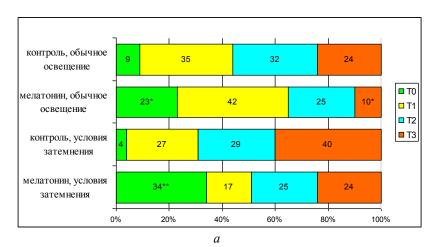
Примечательно, что изменение фотопериода оказывает влияния на тучные клетки тимуса мышей, независимо от введения мелатонина. Так, в соединительнотканных корковых перегородках доля β_1 , β_2 и β_3 -метахроматичных тучных клеток составляет 44, 49 и 7%, в то время как у мышей, пребывавших в условиях постоянного затемнения, эта доля составляет 29, 63 и 8%. В паренхиме тимуса эти показатели равны 48, 50 и 2%, 37, 60 и 3% соответственно.

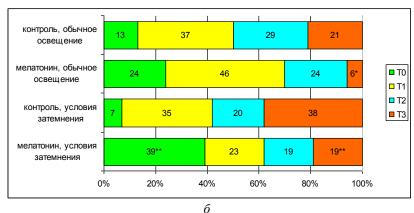
Таким образом, поступление мелатонина в организм лабораторных мышей приводит к увеличению доли тучных клеток с β_2 и β_3 степенью метахромазии. Распределение тучных клеток по степени дегрануляции в зависимости от условий освещения при мелатонине в течение двух недель представлено на рис. 21.

При введении мелатонина животным, содержавшимся в отсутствие света в течение четырех недель, наблюдается сходная тенденция: доля T_0 форм тучных клеток составляет в корковых перегородках 34% (против 4% у мышей 2-й контрольной группы, р < 0,001), в паренхиме тимуса — 39% (против 7% у животных 2-й контрольной группы, р < 0,001). Доля T_1 форм в корковых перегородках не превышала 17%, доля T_2 и T_3 форм составляла 25 и 24% соответственно. В паренхиме отмечается тенденция к уменьшению доли T_3 форм тучных клеток до 19% (против 38% у мышей 2-й контрольной группы, р < 0,05). Доля T_1 и T_2 форм составляет 23 и 19% соответственно.

Под действием мелатонина, вводимого в течение четырех недель в обычных условиях освещения, отмечается тенденция к увеличению доли T_0 форм тучных клеток, что составляет в корковых перегородках 28% (против 11% у животных 3-й контрольной группы, p < 0.05), в паренхиме тимуса — 20%. Доля

 T_1 форм в корковых перегородках не превышала 21%, T_2 и T_3 формы составили 24 и 27% соответственно. В паренхиме доля T_1 форм составляет 26%, T_2 и T_3 формы — 23 и 31% соответственно (см. прил. 2).

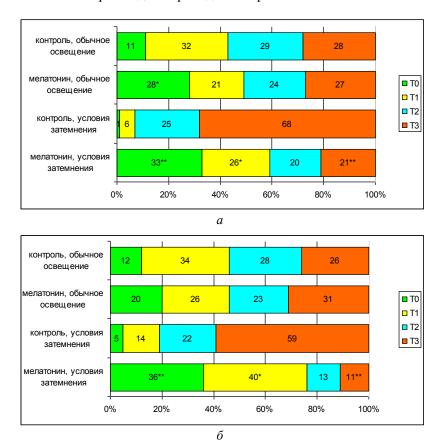




^{*} p < 0.05 ** p < 0.001

Рис. 21. Характеристика тучных клеток по степени дегрануляции в тимусе экспериментальных мышей при введении мелатонина в течение двух недель в различных световых условиях, %: a- в соединительнотканных корковых перегородках; $\delta-$ в паренхиме тимуса

Распределение тучных клеток по степени дегрануляции в зависимости от условий освещения при введении мелатонина в течение четырех недель приведено на рис. 22.



^{*} p < 0.05 ** p < 0.001

Рис. 22. Характеристика тучных клеток по степени дегрануляции в тимусе экспериментальных мышей при введении мелатонина в течение четырех недель в различных световых условиях, %: a- в соединительнотканных корковых перегородках; $\delta-$ в паренхиме тимуса

Введение мелатонина мышам в течение четырех недель в условиях постоянного затемнения вызывает в корковых перегородках увеличение доли T_0 и T_1 форм тучных клеток до 33% (против 1% у мышей 4-й контрольной группы, р < 0,001) и 26% (против 6% у животных 4-й контрольной группы, р < 0,05) соответственно. Доля T_3 форм тучных клеток снизилась до 21% (против 68 % у мышей 4-й контрольной группы, р < 0,001), доля T_2 форм не превышала 20%. В паренхиме тимуса наблюдается схожая картина. Отмечается увеличение доли T_0 форм клеток до 36% (против 5% в 4-й контрольной группе, р < 0,001), доля T_1 форм клеток достигает 40% (против 14 % в 4-й контрольной группе, р < 0,001), доля T_2 форм снижается до 11% (против 59% в 4-й контрольной группе, р < 0,001), доля T_2 форм составляет 13%.

Особенностью распределения тучных клеток тимуса лабораторных мышей, находящихся в условиях постоянного затемнения, по степени дегрануляции является значимое увеличение доли T_3 -форм. Двухнедельное отсутствие фотопериода оказывает воздействие на тучные клетки: доля T_3 -форм тучных клеток по сравнению с контрольной группой, находившейся при обычном освещении, составляет для соединительнотканных корковых перегородок 40 и 24%, а для паренхимы — 38 (р < 0,05) и 21% соответственно. После четырех недель пребывания в условиях постоянного затемнения эти показатели составляют 68 (р < 0,001) и 28% в корковых перегородках, 59 (р < 0,001) и 26% в паренхиме тимуса соответственно.

Таким образом, введение мелатонина мышам в течение двух и четырех недель в различных условиях освещения вызывает изменение качественных и количественных характеристик тучных клеток, что проявляется увеличением степени сульфатированности кислых мукополисахаридов гранул тучных клеток тимуса и повышением доли клеток без признаков дегрануляции. В то же время у мышей, содержавшихся в условиях постоянного затемнения в течение двух и четырех недель, увеличивается степень дегрануляции тучных клеток в тимусе (Шатских О.А., 2015).

3.3. Морфофункциональная реакция клеток диффузной эндокринной системы селезёнки на поступление мелатонина в разных световых условиях

3.3.1. NSE-позитивные клетки селезёнки

В селезёнке интактных белых беспородных мышей среднее количество NSE-позитивных (NSE $^+$) клеток преобладает в периартериальных лимфоидных муфтах (25,6 \pm 6,6). В глубоких зонах красной пульпы NSE $^+$ клетки встречаются неравномерно: имеются участки со скоплениями клеток (53,3 \pm 5,6) и участки с небольшим количеством клеток (15,6 \pm 1,6). В остальных зонах селезёнки количество NSE $^+$ клеток незначительно.

- В ходе цитологического исследования были выделены пять морфотипов NSE-позитивных клеток:
- 1) яркие клетки полигональной формы с видимым ядром и с большим количеством крупных NSE^+ гранул площадью 77,7–82 мкм²;
- 2) яркие округлые клетки с видимым ядром и большим количеством мелких NSE^+ гранул площадью 55–75 мкм²;
- 3) бледные отростчатые клетки с видимым ядром и небольшим количеством мелких NSE^+ гранул площадью 58-78 мкм² (рис. 17);
- 4) бледные округлые клетки с видимым ядром и большим количеством мелких NSE⁺ гранул площадью 9,5–19,6 мкм²;
- 5) мелкие яркие округлые клетки с видимым ядром и с большим количеством крупных NSE⁺ гранул площадью 9,2—12,6 мкм² (рис. 23).

Исходя из литературных данных, NSE-позитивными клетками прежде всего являются клетки ДЭС: макрофаги (Hoedemakers R.M., 1995), дендритные клетки, но также единичные Тлимфоциты (Houwing H., 1996; Shiga Y., 2006). Есть литературные данные, что тучные клетки (Wang L.H., 2001) могут быть NSE-позитивными. NSE-позитивные безъядерные структуры нами не учитывались, так как это, вероятнее всего, тромбоциты и эритроциты (Houwing H., 1995). По морфологическим признакам и локализации можно предположить, что клетки 1-го и 2-го типов относятся к макрофагам либо к тучным клеткам, 3-го типа – к дендритным, а 4-го и 5-го типов, вероятно, к лимфоцитам разной степени зрелости (Luzikova E.M., 2011).

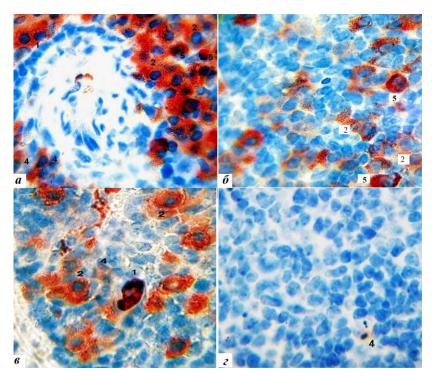


Рис. 23. Распределение NSE-позитивных клеток в разных зонах селезёнки контрольных животных. Увелич. 100: a — периартериальная зона, δ — NSE-позитивные клетки в глубокой красной пульпе селезёнки, s — NSE-позитивные клетки в периферической зоне красной пульпы селезёнки, ε — белая пульпа селезёнки; 1, 2, 3, 4, 5 — типы NSE-позитивных клеток

В наших исследованиях 2011 года (Лузикова Е.М., Сергеева В.Е. и др., 2011) в периартериальных лимфоидных муфтах селезёнки интактных животных присутствуют клетки всех морфотипов, из которых больше половины составляют клетки 3-го и 4-го типов. В мантийной зоне фолликулов NSE-позитивные клетки встречаются редко, притом чаще всего это

клетки 4-го типа. В краевой зоне фолликулов исследуемых клеток больше, и чаще других встречаются клетки 1, 2 и 3-го типов. В маргинальных синусах NSE-позитивных клеток мало, прежде всего это клетки 4-го типа. Снаружи от маргинальных синусов выделяется пограничная зона красной пульпы. Здесь обнаруживаются ряды NSE-позитивных клеток, окружающих фолликулы, и синусы со стороны красной пульпы. У интактных животных здесь преобладают клетки 1-го и 5-го типов. В красной пульпе селезенки преобладают клетки 4-го типа. У контрольных животных NSE-позитивные клетки встречаются в красной пульпе, единично — в периартериальных лимфоидных муфтах и белой пульпе. Наибольшее среднее значение количества NSE-позитивных клеток в поле зрения выявляется в периферической ($14,6\pm2,0$) и глубокой зонах красной пульпы ($14,5\pm1,6$) селезёнки. Мелатонин не приводит к достоверным изменениям количества NSE-позитив-ных клеток в разных зонах белой и красной пульпы.

Условия затемнения приводят к снижению количества NSE-позитивных клеток в красной пульпе селезёнки. Введение мелатонина животным, содержавшимся в естественных световых условиях, приводит к увеличению количества исследуемых клеток в мантийной зоне лимфоидных узелков. Введение мелатонина животным, содержавшимся в темноте, приводит к увеличению количества исследуемых клеток в красной пульпе (рис. 24, 25).

В периартериолярных лимфоидных муфтах, маргинальной зоне и мантийной зоне лимфоидных узелков селезёнки контрольных животных NSE-позитивные клетки встречаются единично. Нахождение животных в темноте в течение четырех недель в условиях затемнения не приводит к значимым изменениям количества NSE-позитивных клеток в этих зонах. Количество данных клеток не меняется при введении мелатонина, независимо от условий освещения во всех зонах, кроме маргинальной зоны, где количество NSE-позитивных клеток возрастает при введении мелатонина (Лузикова Е.М., Сергеева В.Е. и др., 2011).

зоны, где количество NSE-позитивных клеток возрастает при введении мелатонина (Лузикова Е.М., Сергеева В.Е. и др., 2011). Маргинальная зона является иммуннореактивной зоной. Здесь встречаются клетки, реализующие иммунный ответ (Т-хелперы, Т-киллеры, В-лимфоциты, плазмоциты).

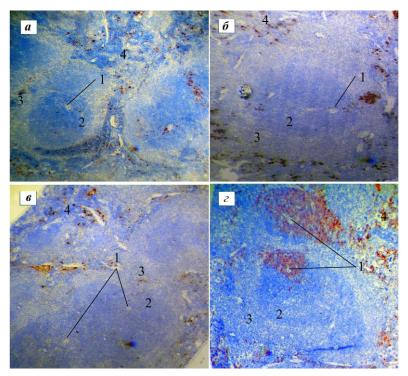


Рис. 24. Влияние мелатонина на количество и локализацию NSE-позитивных клеток селезёнки животных, содержавшихся в разных световых условиях:

a — естественные световые условия; δ — естественные световые условия + мелатонин; δ — условия затемнения; δ — условия затемнения + мелатонин; δ — центральная артериола; δ — мантийная зона; δ — маргинальный синус; δ — красная пульпа

В красной пульпе селезёнки NSE-позитивных клеток на единицу площади содержится больше. Они располагаются в ретикулярной ткани между синусами в глубоких зонах красной пульпы (ГКП) и под капсулой селезёнки (ПКП) в один ряд (рис. 25).

В условиях затемнения снижается количество NSE-позитивных клеток в красной пульпе селезёнки. Введение мелатонина животным, содержавшимся в естественных световых условиях, увеличивает количество исследуемых клеток в мантийной зоне лимфоидных узелков. Введение мелатонина животным, содержавшимся в темноте, приводит к увеличению

количества исследуемых клеток в субкапсулярной области красной пульпы (рис. 25).

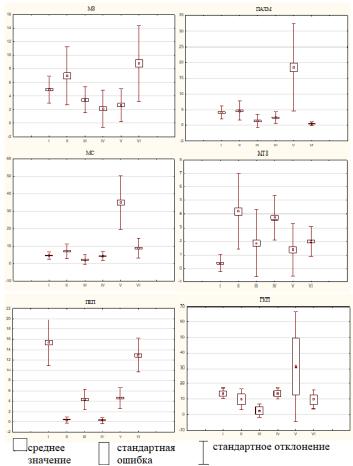


Рис. 25. Изменение количества NSE-позитивных клеток в разных экспериментальных группах:

I — животные, содержавшиеся при естественном освещении; II — животные, содержавшиеся при естественном освещении и получавшие мелатонин; III — животные, содержавшиеся в условиях затемнения; IV— животные, содержавшиеся в условиях затемнения и получавшие мелатонин; V — животные, получившие однократную дозу дексаметазона; VI — животные, содержавшиеся на свету, получавшие мелатонин и однократную дозу дексаметазона

Таким образом, на изменение фотопериода и поступление мелатонина ответную реакцию демонстрируют NSE-позитивные клетки красной пульпы и мантийная зона лимфоидных узелков.

3.3.2. Морфофункциональная реакция биоаминсодержащих структур селезёнки на поступление мелатонина в разных световых условиях

Пребывание мышей в условиях постоянного затемнения не сказывается на изменении микроморфологии селезёнки. Поступление мелатонина в течение четырех недель приводит к изменению морфометрических параметров селезёнки: наблюдается увеличение среднего веса селезёнки как у животных, содержавшихся на свету, так и у животных, находившихся в условиях затемнения (табл. 8). Увеличивается количество лимфоидных узелков от 4 ± 0.2 в контрольной группе до 15 ± 0.8 (p = 0.004) во II экспериментальной группе и до 17 ± 1.4 (p = 0.001) в III экспериментальной группе (Лузикова Е.М., Оганесян Л.В., 2018).

Таблица 8 Макро- и микрометрические показатели селезёнки мышей разных экспериментальных групп ($M\pm m$)

	Группа экспериментальных мышей					
Параметр	Условия ест	гественного	Условия затемнения			
Парамстр	освец	цения				
	I	I II		IV		
Масса селезёнки	$0,19 \pm 0,02$	0.34 ± 0.05	0.17 ± 0.01	$0,22 \pm 0,02$		
		p = 0.01*	p = 0.003*	p = 0.002***		
				p = 0.01**		
Количество ЛУ	4 ± 1	15 ± 3	5 ± 1	6 ± 1		
в поле зрения,		p = 0.004*	p = 0.002*	p = 0.02***		
увел. 10 × 10				p = 0.003**		
Количество	1 ± 0.5	13 ± 4	4 ± 1	5 ± 3		
первичных ЛУ		p = 0.002*	p = 0.006*	p = 0.001***		
				p = 0.007**		
Количество	$3 \pm 0,4$	2 ± 1	$1 \pm 0,5$	1 ± 3		
вторичных ЛУ		p = 0.01*	p = 0.005*	p = 0.002***		
				p = 0.04**		

^{*} По сравнению с І группой.

^{**} По сравнению со II группой.

^{***} По сравнению с III группой.

Гистаминсодержащие клетки селезёнки

Гистаминсодержащие клетки селезёнки – клетки макрофагального ряда (дендритные клетки) и другие клетки, относящиеся к диффузной эндокринной системе (рис. 26, 27).

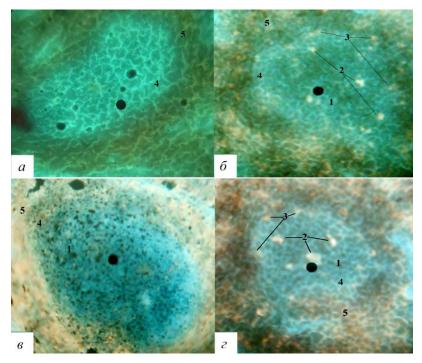


Рис. 26. Увелич. 100. Метод Кросса.

Влияние мелатонина на гистаминсодержащие клетки селезёнки (a, δ) : a — лимфоидный узелок селезёнки контрольной мыши; δ — лимфоидный узелок селезёнки мыши, содержавшейся на свету и получавшей мелатонин. Увел. 100. Метод Фалька — Хиларпа.

Влияние мелатонина на серотонинсодержащие клетки селезёнки (ε , ε): ε — лимфоидный узелок селезёнки контрольной мыши; ε — лимфоидный узелок селезёнки мыши, содержавшейся на свету и получавшей мелатонин. 1 — мантийная зона; 2 — биоаминсодержащие клетки лимфоидного узелка; 3 — береговые клетки; 4 — маргинальная зона лимфоидного узелка; 5 — маргинальный синус

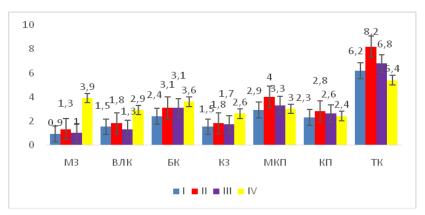


Рис. 27. Влияние мелатонина на содержание гистамина в структурах селезёнки животных, находившихся в разных световых условиях:

M3 — мантийная зона лимфоидного узелка; ВЛК — люминесцирующие клетки лимфоидного узелка; БК — дендритные клетки; K3 — краевая зона лимфоидного узелка; КП — красная пульпа; МКП — макрофаги красной пульпы; ТК — тучные клетки. I, II, III, IV — экспериментальные группы

Отсутствие фотопериода в течение четырех недель (нахождение в темноте) не оказывает значительного влияния на белую и красную пульпы селезёнки.

Введение мелатонина животным, содержавшимся в естественных световых условиях, приводит к увеличению содержания гистамина в макрофагах красной пульпы и тучных клетках, а введение мелатонина мышам, содержавшимся в условиях затемнения, – к увеличению содержания гистамина в мантийной зоне лимфоидных узелков и в тучных клетках (рис. 27).

Серотонинсодержащие клетки селезёнки

Серотонинпозитивные клетки, выявляемые люминесцентно-гистохимическими методами, определяются в лимфоидных узелках и красной пульпе.

Отсутствие света (II экспериментальная группа) вызывает увеличение количества серотонинсодержащих клеток в белой пульпе селезёнки и не приводит к значимым изменениям в красной пульпе (табл. 9, рис. 28).

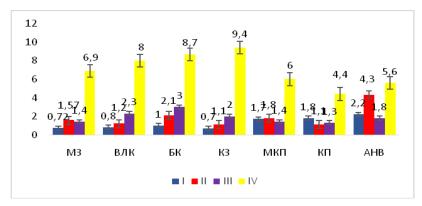


Рис. 28. Влияние мелатонина на содержание серотонина в структурах селезёнки животных, находившихся в разных световых условиях:

 ${
m M3}$ — мантийная зона лимфоидного узелка, ${
m BЛK}$ — люминесцирующие клетки лимфоидного узелка, ${
m KK}$ — дендритные клетки, ${
m K3}$ — краевая зона лимфоидного узелка, ${
m K\Pi}$ — красная пульпа, ${
m MK\Pi}$ — макрофаги красной пульпы, ${
m AHB}$ — адренергическое нервное волокно. ${
m I}$, ${
m II}$, ${
m II}$, ${
m IV}$ — экспериментальные группы

Таблица 9 Изменение серотонинового индекса в иммунокомпетентных структурах селезёнки

Группа	ФФ(В)	ВЛК	БК	ФБК	МКП	КΠ	AHB
I	0,65	0,36	0,48	0,56	0,8	1,04	1,95
II	0,73	0,64	0,73	0,89	0,9	0,9	0,62

Иммуногистохимическая обработка срезов тимуса моноклональными антителами к серотонину 5HT-H209 (Daco, Дания) показала, что в норме серотонинпозитивные клетки встречаются в белой пульпе в небольшом количестве в ПАЛМ, в маргинальной зоне лимфоидных узелков (табл. 10, рис. 29–32).

Таблица 10 Влияние мелатонина на количество серотонинпозитивных клеток селезёнки

Группа	ПАЛМ	МЗ	ГЦ	MC	КП
I	4 ± 1	6 ± 0,2 *	2 ± 0,03**	11 ± 1**	32 ± 1**
II	12 ± 4	9 ± 3*	1 ± 0,2	2 ± 0,1*	55 ± 3**
III	3 ± 0.02	$2 \pm 0,01$	0	0	88 ± 2**
IV	15 ± 3	4 ± 0,05*	$4 \pm 0,5$	129 ± 14**	46 ± 5**

^{*} $p \le 0.5$ ** $p \le 0.01$

 $\Pi A \dot{\Pi} M$ — периартериальная лимфоидная муфта, M3 — мантийная зона лимфоидного узелка, $\Gamma \Pi$ — герминативный центр, MC — маргинальный синус, $K\Pi$ — красная пульпа.

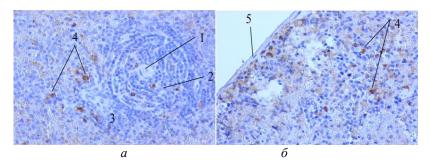


Рис. 29. Серотонинпозитивные клетки селезёнки контрольных мышей (I группа):

a — глубокая область паренхимы селезёнки; δ — субкапсулярная область красной пульпы. 1 — центральная артериола; 2 — первичный лимфоидный узелок; 3 — маргинальный синус; 4 — серотонинсодержащие клетки; 5 — капсула. Увелич. 400

 $^{***} p \le 0.001$

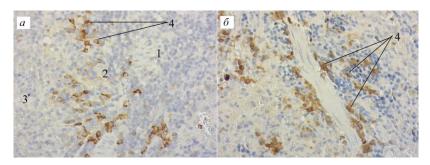


Рис. 30 Серотонинсодержащие клетки селезёнки животных, содержавшихся в естественных световых условиях и получавших мелатонин (II группа):

1 — белая пульпа; 2 — маргинальный синус; 3 — красная пульпа; 4 — серотонинсодержащие клетки. Увелич. 400

В красной пульпе серотонинпозитивные клетки встречаются чаще: вокруг кровеносных сосудов, в субкапсулярной зоне. Отсутствие фотопериода вследствие содержания животных в темноте в течение четырех недель приводит к достоверному увеличению исследуемых клеток в красной пульпе (рис. 31).

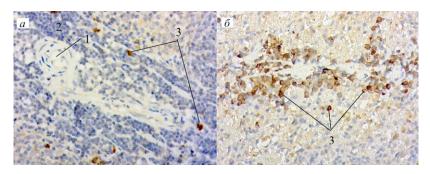


Рис. 31. Серотонинсодержащие клетки селезёнки животных, содержавшихся в темноте (III группа):

a — белая пульпа; δ — красная пульпа. 1 — центральная артериола; 2 — периартериолярная зона; 3 — серотонинпозитивные клетки. Увелич. 400

Введение мелатонина приводит к увеличению количества серотонинпозитивных клеток в красной пульпе селезёнки как у животных, находившихся в естественных световых услови-

ях (в 1,3 раза), так и у животных, содержавшихся в темноте (в 1,9 раза) (рис. 32). В белой пульпе наблюдается увеличение количества серотонинсодержащих клеток в ПАЛМ.

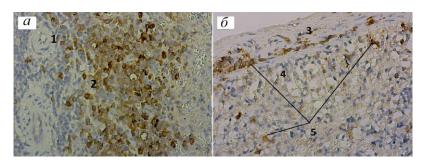


Рис. 32. Серотонинсодержащие клетки селезёнки животных, содержавшихся в темноте и получавших мелатонин (IV группа): a — граница белой и красной пульпы селезёнки; δ — субкапсулярная область красной пульпы. 1 — центральная артериола; 2 — маргинальный синус; 3 — капсула; 4 — красная пульпа; 5 — серотонинпозитивные клетки. Увелич. 400

В белой пульпе селезёнки биоаминопродуцирующими клетками являются дендритные береговые и дендритные внутрифолликулярные клетки. Лимфоциты белой пульпы не способны продуцировать биоамины, могут только поглощать данные соединения из межклеточного вещества. Ежедневное поступление мелатонина приводит к снижению продукции катехоламинов, серотонина в дендритных береговых клетках и во внутрифолликулярных люминесцирующих клетках с высокой достоверностью (табл. 9). Это подтверждается снижением концентрации исследуемых биоаминов в микроокружении данных клеток.

Катехоламинсодержащие клетки селезёнки

К данной группе клеток относятся нейроэндокринные клетки ДЭС. Отсутствие фотопериода не оказывает влияния на нейроэндокринные катехоламинпозитивные клетки. Введение мелатонина животным, содержавшимся в естественных условиях освещения, приводило к повышению содержания катехоламинов в клетках красной пульпы и адренергических нервных во-

локнах (АНВ) адвентиции сосудов. Введение мелатонина животным, содержавшимся в условиях затемнения, приводит к увеличению содержания данного медиатора в АНВ (рис. 33).

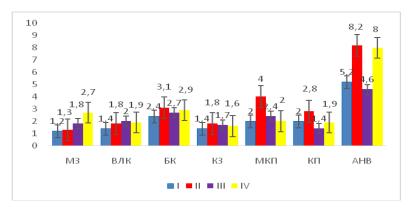


Рис. 33. Влияние мелатонина на содержание катехоламинов в структурах селезёнки животных, находившихся в разных световых условиях:

МЗ — мантийная зона лимфоидного узелка; ВЛК — люминесцирующие клетки лимфоидного узелка; БК — дендритные клетки; КЗ — краевая зона лимфоидного узелка; КП — красная пульпа; МКП — макрофаги красной пульпы; ТК — тучные клетки. I, II, III, IV — экспериментальные группы

Взаимосвязь биогенных аминов в клетках селезёнки экспериментальных мышей

Доминирующим биогенным амином в селезёнке контрольных животных является гистамин. Введение мелатонина на всех сроках эксперимента и независимо от световых условий не приводит к достоверным изменениям интенсивности свечения гистамина в структурах красной пульпы селезёнки мышей. Мелатонин достоверно увеличивает содержание гистамина в клетках ДЭС белой пульпы и лимфоцитах мантийной зоны лимфоидных узелков. Интересным является увеличение содержания гистамина под действием мелатонина в тучных клетках селезёнки животных, содержавшихся в естественных световых условиях, и снижение содержавшихся в темноте.

Был определён серотониновый индекс ($J_{\text{C/KA}}$) для понятия особенностей распределения биогенных аминов в различных зонах селезёнки.

Данные табл. 11 и 12 свидетельствуют о влиянии фотопериода на соотношение биогенных аминов в различных зонах селезёнки. Отсутствие фотопериода (условия затемнения) приводит к увеличению содержания серотонина в лимфоидных узелках селезёнки и снижению содержания серотонина в структурах красной пульпы.

Таблица 11 Изменение серотонинового индекса в иммунокомпетентных структурах селезёнки

Группа	ФФ(В)	ВЛК	БК	КЗ	МКП	КП	ТК
I	0,65	0,36	0,48	0,6	0,8	1,04	1,95
II	0,73	0,64	0,7	0,89	0,8	0,9	0,62
III	0,8	1,2	1,1	1,2	0,6	0,9	0,4
IV	0,4	4,2	3	5,9	3,2	2,3	0,7

Таблица 12 Изменение коэффициента отношения серотонина к гистамину в иммунокомпетентных структурах селезёнки

Группа	ФФ(В)	ВЛК	БК	К3	МКП	КП	ТК
I	0,6	0,6	0,4	0,5	0,9	0,9	0,4
II	1,2	0,7	0,7	0,6	0,5	0,4	0,5
III	1,4	1,9	1,2	1,3	0,6	0,6	0,4
IV	2,6	4,2	3	5,9	3	2,3	0,7

Введение мелатонина животным, находившимся в условиях естественного фотопериода, приводит к увеличению серотонинового индекса в белой пульпе и снижению в красной. Введение мелатонина животным, содержавшимся в условиях затемнения, приводит к увеличению серотонинового индекса во всех исследуемых структурах селезёнки.

Таким образом, красная и белая пульпы по-разному реагируют на изменение фотопериода и на введение мелатонина.

Глава 4. РЕАКЦИЯ МАКРОФАГАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ НА ВВЕДЕНИЕ МЕЛАТОНИНА

4.1. Исследование макрофагальной системы тимуса

4.1.1. Iba 1-позитивные клетки тимуса

Ионизирующая кальций-связывающая адапторная молекула (ionized calcium-binding adapter molecule 1 (Iba 1) идентифицирована как кальций-связывающий белок, экспрессирующийся клетками моноцитарно-макрофагального происхождения, включающего свободные моноциты, тканевые макрофаги и клетки микроглии. Iba 1 является кальций-связывающим белком массой 17 кД, состоящим из 147 аминокислот и содержащим два кальцийсвязывающих участка (Кирик О.В., Сухорукова Е.Г. и др., 2010). Iba 1 принимает участие в реорганизации актинового скелета и образовании мембранных складок макрофагов при индуцированном фагоцитозе (Arushanian É.B., 2013).

В тимусе Iba 1-позитивными являются отростчатые клетки, содержащие интенсивно окрашенные участки с зернистым содержимым. Встречаются единично безотростчатые клетки полигональной формы. Эндотелий сосудов, тучные клетки, лимфоциты не проявляют Iba 1-позитивность. Iba 1-позитивные клетки встречаются как в корковом, так и в мозговом веществе дольки тимуса, но в норме преобладают в корковом веществе. Эти данные согласуются с функцией коркового и мозгового вещества долек: в корковом веществе активнее идут процессы фагоцитоза. Здесь фагоцитируются и презентируются антигены, фагоцитируются клетки и клеточные элементы. Мелатонин увеличивает общее количество Iba 1-позитивных клеток в мозговом веществе в 2,6 раза (р < 0,01).

Іва 1-позитивных клеток в норме больше, чем МНС ІІ-позитивных (рис. 34), так как не все фагоцитирующие клетки являются антигенпрезентирующими (Лузикова Е.М., 2016).

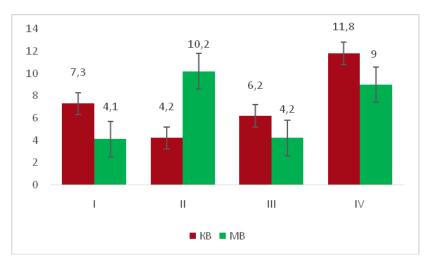


Рис. 34. Количественная реакция Iba 1-позитивных клеток коркового (KB) и мозгового вещества (MB) тимуса на введение мелатонина

4.1.2. MHC II-позитивные клетки тимуса

Макрофаги являются обязательными участниками процессов дифференцировки лимфоцитов (Бибик Е.Ю., Берест А.Ю., 2011) и негативной селекции в тимусе (Milicevic N.M., Milicevic Z., 2013). К МНС ІІ-позитивным клеткам тимуса относят антигенпредставляющие дендритные клетки, макрофаги, а также В-лимфоциты. МНС II-позитивными клетками, принимающими участие в селекции лимфоцитов, также являются эпителиальные клетки. Снижение экспрессии МНС II на мембранах тимусных эпителиальных клеток приводит к гибели тимоцитов, так как нарушается их положительный отбор (Lee G., Kim K.Y. et al., 2012). Белки главного комплекса гистосовместимости второго класса – major histocompatibility complex class II (MHC II) – необходимы для развития Т-клеточного иммунного ответа, а также для обеспечения взаимодействия между Т-лимфоцитами и макрофагами в процессе иммунного ответа (Маянский Н.А., Маянский А.Н., 2004) и, следовательно, являются специфичными маркерами активированных макрофагов (Лузикова Е.М.,

Гордова В.С. и др., 2016). Динамичность экспрессии молекул МНС II (АПК) зависит от функционального состояния клетки и изменения под влиянием различных стимулов. Это один из механизмов, контролирующих индукцию и реализацию иммунного ответа (Сарилова И.Л., Сергеева В.Е., 2008). Связь между Іба 1 и МНС ІІ молекулами проявляется в процессах антигенпрезентации. Антигены захватываются макрофагальными цитоплазматическими отростками, в образовании которых участвует Iba 1, и после фрагментации связываются с молекулами МНС II. Неактивность либо снижение экспрессии Iba 1 или МНС II приводят к ослаблению иммунного ответа. Следовательно, изменение качественных и количественных характеристик Iba 1- и МНС ІІ-позитивных клеток является показателем силы иммунного ответа. Впервые проведено сравнительное исследование реакции Iba 1- и MHC II-позитивных клеток тимуса на иммуностимуляторы различной природы и сделана попытка определить силу иммунного ответа по соотношению количественных характеристик Iba 1- и МНС II-позитивных клеток.

В тимусе присутствуют банальные макрофаги (Іва 1-позитивные, МНС II-негативные), фагоцитирующие клетки и клеточные элементы в процессах негативной селекции и бласттрансформации лимфоцитов. Активированными макрофагами можно считать клетки, имеющие Iba 1- и MHC II-рецепторы, а о стимуляции иммунного ответа свидетельствует увеличение количества этих клеток. Соотношение МНС II- и Iba 1-позитивных клеток (MHC II / Iba 1) показывает долю активированных макрофагов. Когда МНС II/Iba 1 равно или немногим более 1 при одновременном увеличении Iba 1- и МНС II-позитивных клеток, мы можем говорить об иммуностимуляции. У интактных животных МНС II / Iba 1 в корковом веществе равно 0,7, а в мозговом – 0,5. При введении мелатонина в корковом и мозговом веществе долек Iba 1-позитивных клеток становится меньше, чем МНС ІІ-позитивных, при увеличении количества клеток каждой группы. МНС II / Iba 1 равно 1,3 и 1,6 соответственно, что свидетельствует об иммуностимуляции.

В тимусе интактных животных МНС II-позитивные клетки встречаются в субкапсулярной области, где они имеют упло-

щенную форму, видимое ядро и хорошо различимые гранулы белка МНС II. В корковом веществе долек и в кортикомедуллярных зонах встречаются клетки полигональной формы, крупнее предыдущих. МНС ІІ-позитивные клетки кортикомедуллярной зоны (в среднем 13.93 ± 1.23 клеток в поле зрения) располагаются по всей ее протяженности плотно, в один - два ряда. Размер клеток в среднем равен 7,75 ± 0,29 мкм (площадь 85.30 ± 9.43 мкм²). Многие клетки имеют неправильнополигональную отростчатую форму, но среди них встречаются единичные клетки округлой формы. В центре антигенпредставляющих клеток (АПК) хорошо видны контуры округлого ядра. В мозговом веществе долек выявляются более мелкие клетки с мелкими гранулами МНС II. В корковых (в среднем $5,43 \pm 0,58$ клеток в поле зрения) и мозговых зонах (в среднем 1.85 ± 0.24 клеток в поле зрения) долек тимуса АПК располагаются диффузно, преобладая в корковом веществе (р < 0,01). Это объясняется тем, что стромальные эпителиальные клетки мозгового вещества долек являются МНС ІІ-негативными (Лузикова Е.М., 2016). Следовательно, в мозговом веществе тимусных долек МНС ІІ-позитивными являются преимущественно макрофаги, а также небольшое число В-лимфоцитов. Эндотелиоциты, адипоциты, тучные клетки, являющиеся МНС ІІ-позитивными в тимусе, мы не учитывали.

При введении мелатонина количество МНС ІІ-позитивных клеток в корковом веществе долек не претерпевает значительных изменений, а в мозговом веществе долек возрастает по сравнению с контрольными значениями в 8,9 раза (р < 0,01). Вероятно, это связано с увеличением миграции МНС ІІ-позитивных макрофагов и В-лимфоцитов из кровотока. В кортикомедуллярной зоне МНС ІІ-позитивные дендритные клетки и макрофаги не образуют «рамки», характерные для долек тимуса интактных животных, так как их количество снижается до единичных клеток (рис. 35). Введение мелатонина животным, содержавшимся в темноте, приводит к увеличению количества активированных макрофагов как в мозговом (в 3,7 раза, р < 0,01), так и в корковом веществе (в 2 раза, р < 0,01) тимуса. Отсутствие фотопериода не оказывает значимого влияния на

количество МНС ІІ-позитивных клеток (Лузикова Е.М., Шатских О.А., 2016).

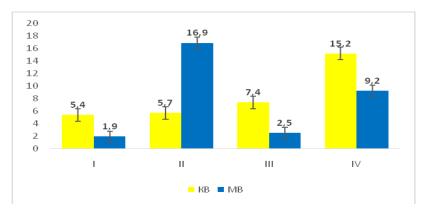


Рис. 35. Количественный ответ МНС II-позитивных клеток коркового и мозгового вещества тимуса на введение мелатонина в разных световых условиях

Таким образом, антигенпрезентирующие клетки коркового и мозгового вещества тимуса реагируют на изменение фотопериода и введение мелатонина.

4.1.3. СD68-позитивные клетки тимуса

CD68 — это скавенджер-рецептор (Moore K.J. et al., 2006; Song L. et al., 2011), маркер клеток моноцитарно/макрофагальной линии, лизосом-ассоциированный мембранный гликопротеин (Taylor P.R. et al., 2005; Ashley J.W. et al., 2011).

При обработке гистологических срезов тимуса экспериментальных мышей моноклональными антителами к маркеру CD68 выявлялись макрофаги. CD68-позитивные клетки располагались во всех морфофункциональных зонах дольки тимуса: в корковом и мозговом веществе, на границе коркового и мозгового вещества дольки. При оценке гистологических срезов тимуса контрольных животных, обработанных моноклональными антителами к антигену CD68, исследуемые клетки в небольшом количестве выявляются во всех морфофункциональ-

ных зонах тимусной дольки. Схожие результаты были получены в работе Стручко Г.Ю. и соавт. (2012) при обработке срезов тимуса интактных крыс моноклональными антителами к маркеру CD68.

Наибольшая плотность расположения СD68-позитивных клеток определялась в корковом веществе дольки (рис. 36). Клетки, экспрессирующие маркер CD68, имеют морфологию, характерную для макрофагов: они большего размера, нежели окружающие их лимфоциты, имеют преимущественно полигональную форму, однако встречаются клетки округлой и овальной формы. В цитоплазме CD68-позитивных клеток определяются яркие красно-коричневые гранулы, имеющие вариабельное количество и размеры. Окружающие клетки тимусной дольки, не экспрессирующие данный антиген, были окрашены в синеголубой цвет.

В ходе исследования в тимусе интактных животных были выделены четыре типа CD68-позитивных клеток (рис. 37):

- I- бледные клетки полигональной формы, содержащие мало гранул макросиалина, площадью 35–110 мкм 2 (средней площадью $61,2\pm2,9$ мкм 2);
- II яркие клетки, содержащие много гранул макросиалина, площадью $50-150~{\rm mkm}^2$ (средней площадью $82,8\pm4,5~{\rm mkm}^2$);
- III бледные отростчатые клетки, содержащие мало гранул макросиалина, площадью 4,5-21 мкм 2 (средней площадью $4,9\pm0.9$ мкм 2);
- IV крупные отростчатые CD68-позитивные клетки в мозговом веществе дольки, содержащие в своей цитоплазме другие клетки.

В субкапсулярной зоне долек преимущественно встречаются клетки I типа (97%), в глубокой зоне коры — клетки I, II, III и IV типов (37, 20, 40 и 3% соответственно), а в кортико-медуллярной зоне — клетки I типа (94%). В мозговом веществе дольки тимуса CD68-позитивные клетки тимуса не встречаются.

Люминесцентно-гистохимическими методами в тимусе интактных мышей выявляются субкапсулярные клетки, среди которых выделяются две субпопуляции: клетки с бледной люминесценцией, неправильной полигональной формы, средней

площадью $108,79 \pm 0,66$ мкм², и клетки с более яркой люминесценцией, округло-овальные или плоские, средней площадью $152 \pm 0,6$ мкм². Клетки с бледной люминесценцией мы относим к CD68-позитивным клеткам I типа и идентифицируем как макрофаги субкапсулярной зоны, а ярко люминесцирующие клетки — к CD68-позитивным клеткам II типа.

В кортико-медуллярной зоне люминесцентно-гистохимическими методами были выявлены люминесцирующие гранулярные клетки. Последние значительно крупнее субкапсулярных (средняя площадь $327 \pm 0.65 \text{ мкм}^2$), располагаются в 1-2 ряда, большинство имеет неправильную полигональную форму. Это плотноупакованные гранулярные клетки с гранулами различных размеров и форм, люминесцирующие ярче, чем макрофаги субкапсулярной зоны. Данный тип люминесцирующих клеток можно идентифицировать как дендритные клетки, поскольку они дают положительную реакцию на кислую фосфотазу и альдегид-фуксинофилию (Петрова Т.Л., Сергеева В.Е., 2002) (рис. 35).

В кортико-медуллярной зоне также выявляются клетки правильной округло-овальной формы меньшего размера (средняя площадь $69 \pm 2,3\,$ мкм²). В тимусе интактных животных первый тип клеток, вероятно, проявляет отрицательную реакцию к моноклональным антителам Hu CD68, так как в кортико-медуллярной зоне CD68-позитивные клетки такого размера не выявляются. Второй тип люминесцирующих клеток сопоставим с суданофильными макрофагами кортико-медуллярной зоны, имеющими гранулярную цитоплазму, среднюю площадь, равную $73 \pm 0,8\,$ мкм².

Вероятно, суданофильные клетки и ЛГК КМЗ долек тимуса соответствуют СD68-позитивным клеткам I типа, которые не формируют сплошного ряда, а располагаются по одной либо в группе из 2–3 клеток. Такие же клетки встречаются в глубокой зоне коркового вещества тимуса (рис. 36, 37). Возможно, в глубокой зоне коркового вещества тимуса CD68-позитивные клетки I и II типов — это макрофаги разных стадий функционирования.

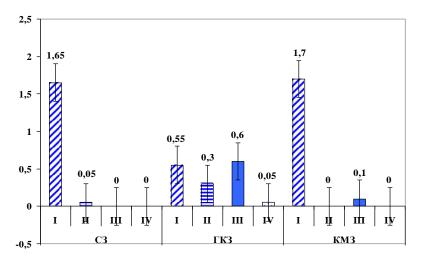


Рис. 36. Локализация CD68-позитивных клеток в дольках тимуса интактных животных:

I – крупные бледные клетки, содержащие мало гранул макросиалина;
 II – крупные яркие клетки, содержащие много гранул макросиалина;
 III – мелкие бледные клетки, содержащие мало гранул макросиалина;
 IV – мелкие яркие клетки, содержащие много гранул макросиалина;
 V – самые крупные, содержащие очень много гранул макросиалина.
 C3 – субкапсулярная зона дольки, ГКЗ – глубокая зона коркового вещества дольки, КМЗ – кортико-медуллярная зона дольки тимуса

Общегистологической окраской гематоксилин-эозином выявляется возрастная гетерогенность популяции тимоцитов мышей: малые тимоциты имеют площадь менее 7 мкм 2 , средние — от 7 до 10 мкм 2 , а крупные — более 10 мкм 2 (5). Возможно, к CD68-позитивным клеткам III типа относится особая популяция тимоцитов, встречающихся во всех исследуемых зонах.

Крупные отростчатые CD68-позитивные клетки в глубокой зоне коркового вещества дольки, содержащие в своей цитоплазме другие клетки, встречаются редко (в 2 случаях из 40).

Корреляционный анализ числа CD68-позитивных клеток разных морфотипов в поле зрения показал сильную прямую связь между макрофагами и лимфоцитами в субкапсулярной зоне дольки тимуса интактных животных (r=0.85; $p\leq0.0001$).

Корреляционный анализ средних значений числа морфотипов CD68-позитивных клеток разных зон дольки тимуса также показал, что прямая полная корреляционная связь наблюдается между макрофагами и лимфоцитами ($r=0.99; p \leq 0.0001$). Вероятно, CD68-позитивные макрофаги и лимфоциты тимуса функционально взаимосвязаны.

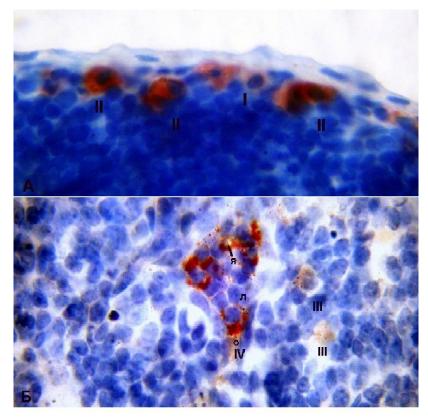


Рис. 37. Иммунологическая реакция Мо а Hu CD68. CD68-позитивные клетки разных морфотипов в субкапсулярной зоне. Увелич. 10 × 100.

А: I – бледные клетки полигональной формы, содержащие мало гранул макросиалина; II – яркие клетки, содержащие много гранул макросиалина. Б: IV– крупные отростчатые CD68-позитивные клетки в мозговом веществе дольки

При увеличении ×1000 был произведен подсчет CD68позитивных клеток в поле зрения во всех морфофункциональных зонах долек тимуса для каждой группы экспериментальных мышей (табл. 13).

Таблица 13 Количество CD68-позитивных клеток в морфофункциональных зонах долек тимуса экспериментальных мышей (в поле зрения при увеличении ×1000)

	Группа экспериментальных мышей					
Параметр	Срок эксперимента – 2 недели					
		ые условия ещения	Условия постоянного затемнения			
	1-я кон- трольная группа	1-я опытная группа (мелатонин)	2-я кон- трольная группа	2-я опытная группа (мелатонин)		
Корковое вещество долек	2,22±0,41	12,80±0,94**	3,76±0,48	19,80±1,64**		
Мозговое веще- ство долек	0,58±0,12	2,02±0,33**	0,94±0,15	1,98±0,23**		
Граница коркового и мозгового вещества	0,38±0,01	1,80±0,22**	0,86±0,15	2,20±0,23**		
	Срок эксперимента – 4 недели					
Попомотп		ые условия ещения	Условия постоянного затемнения			
Параметр	3-я кон- трольная группа	3-я опытная группа (мелатонин)	4-я кон- трольная группа	4-я опытная группа (мелатонин)		
Корковое веще- ство долек	2,76±0,52	15,00±1,40**	4,04±0,51	20,02±1,65**		
Мозговое веще- ство долек	0,50±0,08	1,94±0,26**	1,10±0,18	2,36±0,45*		
Граница коркового и мозгового вещества	0,46±0,09	2,20±0,32**	0,98±0,18	3,62±0,38**		

p < 0.05

^{**} p < 0.001

При введении мелатонина мышам, содержащимся в обычных условиях освещения в течение двух недель, количество CD68-позитивных клеток в корковом веществе долек тимуса составляет $12,80\pm0,94$ в поле зрения, что в 5,7 раза больше, чем у мышей 1-й контрольной группы (р < 0,001). В мозговом веществе долек тимуса количество CD68-позитивных клеток составляет $2,02\pm0,33$ в поле зрения, что в 3,5 раза больше, чем показатель 1-й контрольной группы животных (р < 0,001). На границе коркового и мозгового вещества дольки тимуса отмечается увеличение количества CD68-позитивных клеток в 4,7 раза (р < 0,001) по сравнению с мышами 1-й контрольной группы и составляет $1,80\pm0,22$ клетки в поле зрения.

У мышей, получавших мелатонин в течение двух недель в условиях постоянного затемнения, количество CD68-позитивных клеток в корковом веществе долек составляет $19,80\pm1,64$ клеток в поле зрения, что в 5,3 раза превышает этот показатель у мышей 2-й контрольной группы (р < 0,001). В мозговом веществе дольки тимуса количествоCD68-позитивных клеток двукратно превышает этот показатель у мышей 2-й контрольной группы, и составляет $1,98\pm0,23$ в поле зрения (р < 0,001). На границе коркового и мозгового вещества дольки тимуса количество исследуемых клеток имеет тенденцию к увеличению в 2,5 раза (р < 0,001) по отношению к животным 2-й контрольной группы и составляет $2,20\pm0,23$ клеток в поле зрения.

Введение мелатонина в течение четырех недель в обычных условиях освещения приводит к визуальному увеличению количества CD68-позитивных клеток в корковом и мозговом веществе тимусных долек (рис. 38, 39). Максимальная плотность CD68-позитивных клеток в морфофункциональных зонах тимуса обнаруживается в корковом веществе долек и составляет $15,00\pm1,40$ клеток в поле зрения, что в 5,4 раза выше показателя мышей 3-й контрольной группы (р < 0,001). В мозговом веществе дольки тимуса количество макрофагов составляет $1,94\pm0,26$ клеток в поле зрения, что в 3,9 раз превышает показатель 3-й контрольной группы животных (р < 0,001). На границе коркового и мозгового вещества дольки тимуса отмечается пятикратное увеличение количества CD68-позитивных клеток

до $2,20\pm0,32$ в поле зрения (p < 0,001) по сравнению с контрольными мышами, содержащимися в течение четырех недель в обычных условиях освещения.

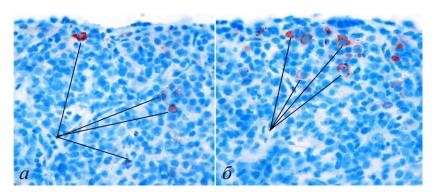


Рис. 38. Корковое вещество дольки тимуса экспериментальных животных, находившихся в условиях обычного освещения в течение четырех недель. Микроскоп МИКМЕД-5. Об. 100. Ок. 10: a — мышь контрольной группы; δ — мышь опытной группы (введение мелатонина). Стрелками указаны CD68-позитивные клетки

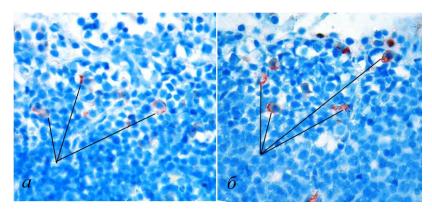


Рис. 39. Корковое вещество дольки тимуса экспериментальных животных, находившихся в условиях постоянного затемнения в течение четырех недель. Микроскоп МИКМЕД-5. Об. 100. Ок. 10: a — мышь контрольной группы; δ — мышь опытной группы (введение мелатонина). Стрелками указаны CD68-позитивные клетки

При микроскопическом исследовании срезов тимуса мышей, получавших мелатонин в течение четырех недель в условиях постоянного затемнения, количество макрофагов в корковом веществе долек пятикратно увеличивается (p < 0,001) по сравнению с животными 4-й контрольной группы и составляет $20,02 \pm 1,65$ клеток в поле зрения. В мозговом веществе дольки тимуса количество CD68-позитивных клеток составляет $2,36 \pm 0,45$ в поле зрения, что в 2,1 раза выше показателя 4-й контрольной группы животных (p < 0,05). На границе коркового и мозгового вещества дольки тимуса выявляется четырехкратное увеличение (p < 0,001) количества CD68-позитивных клеток по сравнению с мышами 4-й контрольной группы, находившимися в течение четырех недель в условиях постоянного затемнения, что составляет $3,62 \pm 0,38$ клеток в поле зрения.

Несмотря на то, что под действием мелатонина количество макрофагов увеличивается во всех морфофункциональных зонах, самые значительные изменения происходят в корковом веществе долек тимуса.

Кроме того, пребывание мышей в условиях постоянного затемнения приводит к изменению количественных показателей макрофагов в зонах тимусной дольки. Так, у контрольных мышей, находившихся в условиях постоянного затемнения в течение двух и четырех недель, в корковом веществе дольки отмечается увеличение количества CD68-позитивных клеток в 1,5 раза (р < 0,05), на границе коркового и мозгового вещества дольки — в 2 раза (р < 0,05), а также в 2 раза (р < 0,05) — в мозговом веществе дольки (срок эксперимента — 4 недели) по сравнению с контрольными животными, находившимися в условиях обычного освещения (Шатских О.А., 2015).

Таким образом, постоянное введение мелатонина в организм экспериментальных мышей в течение двух и четырех недель независимо от условий освещения приводит к увеличению плотности расположения CD68-позитивных клеток во всех морфофункциональных зонах тимусной дольки. При этом максимальная плотность макрофагов отмечается в корковом веществе дольки.

4.2. Исследование макрофагальной системы селезёнки

4.2.1. СD68-позитивные клетки селезёнки

В селезёнке интактных мышей CD68-позитивные клетки встречаются преимущественно в периартериальных лимфоидных муфтах и красной пульпе. В красной пульпе органа мы выделяем глубокую зону, расположенную между фолликулами, и периферическую зону, расположенную под капсулой органа. Отличие их в том, что в глубокой зоне красной пульпы исследуемых клеток больше, а периферическая красная пульпа отличается меньшим содержанием CD68+ клеток. Исследуемые клетки редко встречаются и в других зонах: в мантийной зоне фолликулов, маргинальном синусе, среди эпителиоцитов мезотелия.

При оценке гистологических срезов тимуса контрольных животных, обработанных моноклональными антителами к антигену CD68, исследуемые клетки в небольшом количестве выявляются во всех морфофункциональных зонах тимусной дольки. Схожие результаты были получены в работе Стручко Г.Ю. и соавт. (2012) при обработке срезов тимуса интактных крыс моноклональными антителами к маркеру CD68.

Вне зависимости от фотопериода и длительности введения мелатонина плотность расположения макрофагов увеличивается во всех морфофункциональных зонах тимуса, особенно значительны изменения в корковом веществе дольки.

Так, у мышей, получавших гормон в течение двух и четырех недель в условиях постоянного затемнения, количество клеток в поле зрения, экспрессирующих маркер CD68, в корковом веществе дольки тимуса увеличивается в 5–5,3 раза (р < 0,001), а у животных, получавших гормон в течение двух и четырех недель в условиях обычного освещения, количество макрофагов возрастает в 5,4–5,7 раза (р < 0,001). В мозговом веществе количество макрофагов в тимусе лабораторных мышей, содержавшихся в условиях постоянного затемнения при введении мелатонина в течение двух и четырех недель, увеличивается в 2 раза

(p < 0.001), а при содержании в условиях обычного освещения — в 3,5 раза (p < 0.001).

В работе Currier N.L. с соавт. (2000) также подтверждается увеличение количества макрофагов в костном мозге и селезёнке. Повышение количества макрофагов под действием мелатонина может быть частично связано с его прямым воздействием на мелатониновые рецепторы (Barjavel M.J. et al., 1998) или с возможным усилением чувствительности к интерлейкинам или колониестимулирующим факторам (Maestroni G.J. et al., 1994; Currier N.L. et al., 2000). B paбotax Kaur C., Ling E.A. (1999) было отмечено повышение активности моноцитов/макрофагов при введении мелатонина. В обычном состоянии моноциты циркулируют непродолжительный период времени и подвергаются спонтанному апоптозу (Parihar A. et al., 2010). Имеют место данные, что мелатонин защищает моноциты от апоптоза. Так, в работе Luchetti F. с соавт. (2006) мелатонин предотвращал апоптоз, индуцированный ультрафиолетовым облучением клеток, который был опосредован путем защиты митохондрий.

Основной функцией макрофагов в тимусе являются контроль прохождения позитивной и негативной селекции в органе, фагоцитоз погибших Т-лимфоцитов (Кащенко С.А. и др., 2010; Луговцова П.А. и др., 2012). В нашем исследовании значительное увеличение количества СD68-позитивных клеток в корковом веществе тимусной дольки может указывать на большую вовлеченность макрофагов в процессы дифференцировки Т-клеток.

Наблюдаемое нами (Шатских О.А., 2015) значительное увеличение площади мозгового вещества долек тимуса мышей, получавших мелатонин в течение четырех недель в условиях обычного освещения и постоянного затемнения, по сравнению с животными контрольной группы может быть обусловлено увеличением количества СD57- и CD68-позитивных клеток, эозинофилов и, вероятно, В-лимфоцитов. В работе Лузиковой Е.М. с соавт. (2014) показано девятикратное увеличение количества МНС II-позитивных клеток в мозговом веществе долек тимуса мышей, получавших мелатонин ежедневно в дозе 0,03 мг на животное в сутки в течение месяца. Мы связываем

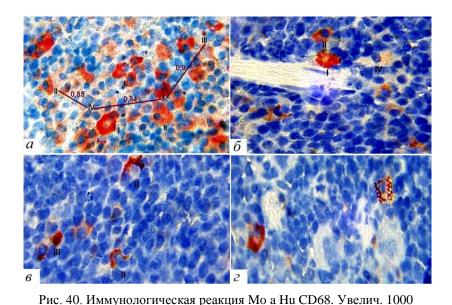
значительное увеличение количества данных клеток с миграцией В-лимфоцитов и макрофагов из кровотока.

В процессе исследования в селезёнке были выделены четыре разновидности CD68+ клеток:

- I яркие клетки полигональной формы, содержащие много гранул макросиалина, сравнительно маленькое ядро, площадью от 106 до 216 мкм 2 (со средней площадью 162 ± 45 мкм 2), имеющие рядом с ядром светлый, неокрашенный участок;
- II клетки, содержащие среднее количество гранул макросиалина, иногда с видимыми лизосомами, площадью от 37 до 69 мкм² (со средней площадью 51 ± 16 мкм²);
- III яркие округлые клетки, содержащие много гранул макросиалина, площадью от 18 до 21 мкм² (со средней площадью 19.7 ± 1.1 мкм²);
- IV бледные отростчатые клетки, содержащие мало гранул макросиалина, площадью от 115 до 173 мкм² (со средней площадью 115 ± 38 мкм²) (рис. 38).

В селезёнке интактных животных во всех зонах, за исключением краевых зон лимфоидных узелков, преобладают клетки II типа (рис. 16). Остальные разновидности клеток встречаются редко. Все выделенные нами разновидности клеток выявляются в красной пульпе, а краевые зоны лимфоидных узелков и маргинальные синусы не отличаются разнообразием исследуемых клеток.

Исходя из морфологии и локализации мы предположили, что к CD68+ клеткам I и II группы относятся макрофаги в разных фазах секреции. В одних макрофагах макросиалин выявляется в виде гранул, образующих равномерную зернистость, в других — определяются лизосомы (рис. 40, г). Клетки IV типа имеют отростки, хотя CD68-позитивными являются только основания отростков. Морфология и локализация этих клеток в периартериальных лимфоидных муфтах, в перифолликулярных и глубоких зонах красной пульпы позволяют отнести их к дендритным.



Распределение CD68-позитивных клеток разных морфотипов в маргинальном синусе (в), глубокой зоне (а, б), субкапсулярной зоне (г) красной пульпы селезёнки контрольных животных. На рисунке обозначена значимая корреляционная связь по количеству клеток в парах клеток разных морфотипов:

I — крупные яркие клетки, содержащие много гранул макросиалина; II — крупные или среднего размера клетки с видимым ядром, содержащие среднее количество гранул макросиалина, иногда с видимыми лизосомами; III — мелкие яркие клетки, содержащие много гранул макросиалина; IV — крупные бледные клетки, содержащие мало гранул

макросиалина

Корреляционный анализ числа CD68-позитивных клеток разных морфотипов в поле зрения показал, что прямая сильная корреляционная связь наблюдается между клетками III типа и дендритными клетками в глубокой зоне красной пульпы ($r=0.89;\ p\leq0.02$), между макрофагами и дендритными клетками в перифолликулярной зоне красной пульпы ($r=0.9;\ p\leq0.02$). Корреляционный анализ средних значений числа морфотипов CD68-позитивных клеток разных зон селезёнки также показал, что прямая сильная корреляционная связь наблюдается между

макрофагами и лимфоцитами (r = 0,9; p \leq 0,003), макрофагами (I, II типа) и дендритными клетками (r = 0,84; p \leq 0,009; r = 0,85; p \leq 0,007).

Корреляционный анализ по среднему числу CD68-позитивных клеток между зонами тимуса и селезёнки показал, что прямая сильная связь наблюдается между кортико-медуллярной зоной дольки тимуса и всеми исследуемыми зонами селезёнки. Кортико-медуллярная зона тимуса и зоны селезёнки функционально связаны, так как в кортико-медуллярной зоне происходит выход зрелых Т-лимфоцитов из коркового вещества, проникновение их в мозговое вещество и в кровеносные капилляры и их миграция в периферические лимфоидные органы (Шатских О.А., Лузикова Е.М., 2012).

Возможно, СD68-позитивные клетки кортико-медуллярной зоны тимуса и зон селезёнки одинаково реагируют на естественные индукторы пролиферации и миграции. Обратная сильная связь по числу CD68-позитивных клеток выявляется между периферической зоной красной пульпы селезёнки и субкапсулярной зоной дольки тимуса ($p \le 0,001$). Паренхима субкапсулярной зоны дольки тимуса представлена пре-Т-лимфоцитами, лимфобластами и немногочисленными макрофагами, что позволяет рассматривать этот слой как зону лимфоцитопоэза с пролиферацией клеточных элементов. Вероятно, CD68-позитивные клетки субкапсулярной зоны дольки тимуса способны мигрировать в красную пульпу селезёнки либо CD68-позитивные клетки субкапсулярной зоны дольки тимуса и красной пульпы селезёнки по-разному реагируют на естественные индукторы пролиферации и миграции.

4.2.2. MHC II-позитивные клетки

В селезенке интактных животных МНС ІІ-позитивные клетки встречаются как в красной, так и в белой пульпе. Под влиянием мелатонина общее количество МНС ІІ-позитивных клеток снижается, независимо от световых условий (см. прил. 3, 4).

В тимусе интактных животных (І группы) МНС ІІ-позитивные клетки встречаются как в корковом, так и в мозговом веществе долек. Введение мелатонина животным, содержавшимся в естественных свеетовых условиях, приводит к увеличению МНС ІІ-позитивных клеток в мозговом веществе в 8, 9 раза. Вероятно, это связано с активизацией процессов вторичной позитивной селекции в мозговом веществе (рис. 41).

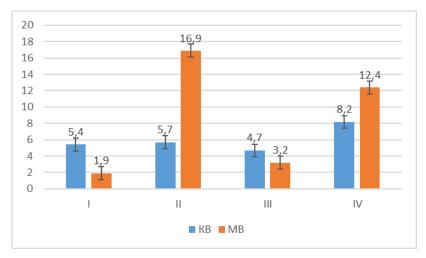


Рис. 41. Количественная реакция МНС II-позитивных клеток тимуса на введение мелатонина животным, содержавшимся в темноте. I, II, III, IV – экспериментальные группы

Введение мелатонина животным, содержавшимся в условиях затемнения приводит к увеличению количества антигенпрезентирующих клеток как в мозговом, так и в корковом веществе долек тимуса.

4.2.3. Іва 1-позитивные клетки

Исследование клеток моноцитарно-макрофагального происхождения показывает, что ежедневное введение мелатонина в течение четырех недель животным, находящимся в условиях естественного освещения, приводит к уменьшению среднего количества Iba 1-позитивных клеток в 2 раза (p=0,0006). Наблюдается уменьшение количества Iba 1-позитивных клеток в ПАЛМ и во всех зонах лимфоидных узелков.

Исследование красной пульпы селезёнки животных, получавших мелатонин, показало уменьшение количества Iba 1-позитивных клеток в маргинальных синусах и увеличение в субкапсулярной области красной пульпы (рис. 42–44).

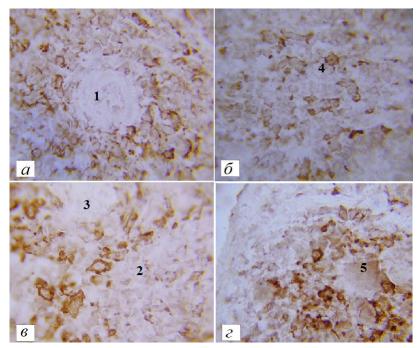


Рис. 42. Iba 1-позитивные клетки в разных функциональных зонах селезёнки:

a — периартериолярная зона лимфоидного узелка; δ — мантийная зона лимфоидного узелка; ϵ — маргинальная зона лимфоидного узелка; ϵ — красная пульпа. 1 — центральная артериола; 2 — маргинальная зона лимфоидного узелка; 3 — маргинальный синус; 4 — мантийная зона; 5 — мегакариоцит

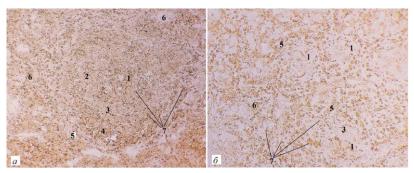


Рис. 43. Увеличение количества Iba 1-позитивных клеток в селезёнке животных, получавших мелатонин (δ) по сравнению с контрольными животными (а): 1 — периартериальная зона; 2 — центр размножения; 3 — мантийная зона; 4 — маргинальная зона; 5 — маргинальный синус; 6 — красная пульпа

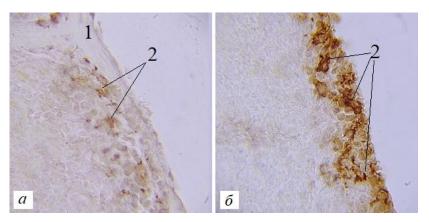


Рис. 44. Увеличение количества Iba 1-позитивных клеток в субкапсулярной области красной пульпы селезёнки животных, получавших мелатонин (б) по сравнению с контрольными животными (а): 1 — капсула; 2 — Iba 1-позитивные клетки

Наши исследования показали, что введение мелатонина животным, находящимся в условиях затемнения, не приводит к значимым изменениям среднего количества антигенпрезентирующих макрофагов, но можно отметить увеличение количества клеток в ПАЛМ, маргинальных зонах лимфоидных

узелков (Лузикова Е.М., Шатских О.А., 2016). Доля активированных макрофагов среди всех клеток макрофагального ряда (МНС II/Iba 1) в селезёнке контрольных животных составляет 0,4; в селезёнке животных, получавших мелатонин и содержавшихся при естественном освещении, -0,5; в селезёнке животных, содержавшихся в темноте и получавших мелатонин, -0,4.

Если же рассмотреть отдельно каждую исследуемую зону селезёнки, то можно отметить, что мелатонин увеличивает долю активированных макрофагов в ПАЛМ, краевых зонах лимфоидных узелков и снижает в субкапсулярной зоне красной пульпы (табл. 14).

Таблица 14 Индекс отношения МНС II- к Iba 1-позитивным клеткам в иммунокомпетентных структурах селезёнки

Эксперимен-		Структура селезёнки					
тальная группа	ПАЛМ	М3	КЗ	MC	ПКП		
I	0,04	0,7	0,5	0,6	0,5		
II	0,2	0,6	0,9	0,7	0,2		
III	0,06	0,6	0,4	0,2	0,9		
IV	0,25	0,6	0,5	0,5	0,2		

Мелатонин, вводимый перорально в течение четырёх недель, вызывает морфофизиологические изменения в селезёнке: усиление пролиферации лимфоцитов, увеличение количества лимфоидных узелков, более выраженное в селезёнке животных, содержавшихся в условиях затемнения. Также наблюдается уменьшение среднего количества клеток макрофагального ряда (Iba 1+) и антигенпрезентирующих макрофагов (МНСІІ+) в селезёнке животных, содержавшихся при естественном освещении, и изменение среднего количества клеток макрофагального ряда (Iba 1+) и антигенпрезентирующих

клеток (MHCII+) в селезёнке животных, содержавшихся при затемнении.

Наиболее чувствительными к световым условиям содержания животных, которым вводился мелатонин, являются ПАЛМ, маргинальный синус и субкапсулярная зона красной пульпы селезёнки (рис. 45).

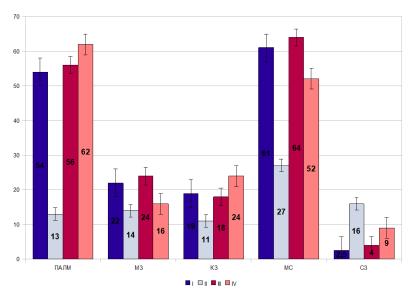


Рис. 45. Количественная реакция Iba 1-позитивных клеток селезёнки мышей на ежедневное введение мелатонина в течение четырёх недель:

ПАЛМ – периартериолярная лимфоидная муфта; МЗ – мантийная зона лимфоидного узелка; КЗ – краевая (маргинальная) зона лимфоидного узелка; МС – маргинальный синус; СЗ – зона красной пульпы, расположенная под капсулой органа. І, ІІ, ІІІ, ІV – экспериментальные группы животных

Глава 5. ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ПРОЦЕССЫ ПРОЛИФЕРАЦИИ И АПОПТОЗА В ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНАХ

Мелатонин был зарегистрирован как важный антиапоптотический агент в различных тканях путём снижения поглощения кальция клетками, уменьшения образования реакционноспособных видов кислорода. В процессе апоптоза гибель клеток индуцируется активацией генетически и биохимически регулируемой системы, включающей молекулы Fas, Fas-L, Bax, Caspases 2, 3, 6, 7, 8 и 9. Этот же процесс может быть ингибирован активацией антиапоптотических молекул (Bcl 2, FLIP), которые тормозят появление этих клеточных изменений. Апоптоз может инициироваться внешними раздражителями посредством активации специфических рецепторов, присутствующих на клеточной поверхности, и внутриклеточным стрессом (митохондриальный путь). Данные митохондриальные изменения могут иметь решающее значение для запуска смертности и облегчать транслокацию митохондриальных белков, блокирование синтеза АТФ и увеличение продуцирования активных форм кислорода. В нескольких исследованиях показано, что мелатонин играет роль как во внешнем пути, за счёт модуляции экспрессии рецепторов смерти, так и в митохондриальном пути, вследствие исключения из цитоплазмы окисляющих свободных радикалов, которые могут быть получены митохондриями. Поскольку уровни мелатонина снижаются со старением, это приводит к ингибированию апоптоза (Сергеева В.Е. и др., 2018). Мелатонин может взаимодействовать с ядерными рецепторами, оказывая прямое геномное действие, изменяя экспрессию генов апоптоза и тем самым ингибируя клеточную гибель (Ferreira C. da S., Maganhin C.C., 2010).

5.1. Исследование процессов пролиферации и апоптоза лимфоцитов тимуса

Биологические процессы идут с разной степенью интенсивности днём и ночью, их суточные колебания называются циркадным ритмом. Самый важный фактор этих ритмов — свет, причём любой: как солнца, так и лампочки или экрана смартфона (Soler J.E., Stumpfig M. et al., 2019). Он приспосабливает

внутреннее время «биологических часов» к внешним обстоятельствам. Главным регулятором этих процессов в организме считается гормон мелатонин (Kessler K., Gerl M.J. et al., 2019).

Циркадное производство мелатонина шишковидной железой объясняет его хронобиотическое влияние на активность организма, включая эндокринные и неэндокринные ритмы. Другие функции мелатонина, в том числе его антиоксидантные и противовоспалительные свойства, геномное действие и способность модулировать митохондриальный гомеостаз, связаны с окислительновосстановительным статусом клеток и тканей (Yu H., Zhang J. et al., 2019; Oleshchuk O., Ivankiv Y. et al., 2019). С помощью специфических антител к мелатонину присутствие последнего было обнаружено во множественных экстрапинеальных тканях, включая тимус, селезёнку, клетки иммунной системы. Существует множество факторов, нарушающих циркадные ритмы, уберечься от которых в современном социуме полностью невозможно. В их числе ночной образ жизни, ночные смены, вечерний приём алкоголя, стресс, световое загрязнение.

Нарушение циркадных ритмов влияет на развитие опухолей: мужчины, трудящиеся в ночные смены, чаще остальных становятся подвержены риску развития некоторых видов онкологических болезней. На первом месте при этом отмечается рак предстательной железы (Mancio J., Leal C. et al., 2018; Barul C., Richard H., Parent M.E., 2019). Женщинам, которые работают по ночам, такой труд грозит в первую очередь риском рака молочной железы (Agbaria S., Haim A., 2019; Pham T.T., Lee E.S. et al., 2019). Развитие опухолей различного генеза является проявлением иммуносупрессии, вызванной искусственным сдвигом фотопериода в световую часть. Существуют исследования, подтверждающие отличия в воздействии мелатонина на показатели клеточного иммунитета при нормальном и непрерывном освещении. В изученной нами литературе мало исследований, посвященных влиянию сдвига фотопериода в темновую часть на иммунные органы.

Пролиферация и апоптоз – основные показатели нормального функционирования тканей, разнонаправленные процессы, обеспечивающие постоянство тканевого состава. Мелатонин подавляет Fas-опосредованную активацию каспазы 3 в лимфоцитах (Yu H., Zhang J., 2019) и стимулирует их возвращение в митотический цикл (Arias J., Melean E., 2003). Мы предполага-

ем, что изменение фотопериода в сторону увеличения темновой части повлияет на пролиферацию и апоптоз лимфоцитов, а также на направление и интенсивность воздействия мелатонина.

5.1.1. Кі 67-позитивные клетки тимуса

Тимус – это орган, в котором активно идут взаимосвязанные процессы пролиферации и апоптоза лимфоцитов.

Отсутствие фотопериода в течение четырех недель не приводит к достоверным изменениям количества лимфоцитов, вступивших в митотический цикл. Введение мелатонина независимо от световых условий приводит к увеличению количества пролиферирующих лимфоцитов в корковом веществе тимуса. Стимулирование пролиферации мелатонином более эффективно при содержании животных в условиях естественного фотопериода (рис. 46, 47).

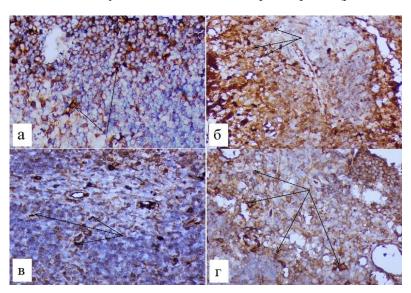


Рис. 46. Увелич. 400. Влияние мелатонина на пролиферацию лимфоцитов тимуса. Клетки, находящиеся в митотическом цикле, окрашиваются в коричневый цвет:

a — животные, содержавшиеся при естественном освещении; δ — животные, содержавшиеся при естественном освещении и получавшие мелатонин; ϵ — животные, содержавшиеся в условиях затемнения; ϵ — животные, содержавшиеся в условиях затемнения и получавшие мелатонин

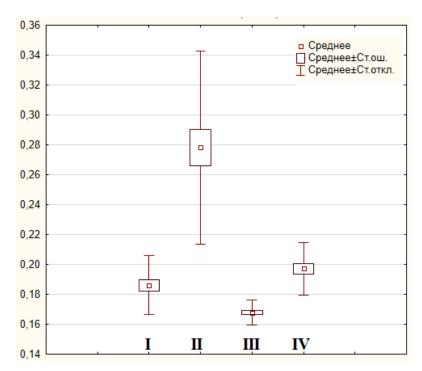


Рис. 47. Влияние мелатонина на коэффициент пролиферации лимфоцитов тимуса в разных световых условиях: по оси ординат — значения оптической плотности; по оси абсцисс — I, II, III, IV, V, VI — экспериментальные группы животных. Меап — среднее, Меап ± SE — стандартная ошибка, Меап ± SD — стандартное отклонение

Антиген Кі 67 представляет собой ядерный белок, экспрессируемый в пролиферирующих клетках млекопитающих. Он широко используется в гистопатологии рака, но его функции остаются неясными. Изменение уровней экспрессии Кі 67 не оказывало значительного влияния на пролиферацию клеток іп vivo, а повышенная экспрессия Кі 67 в дифференцированных тканях не предотвращала остановку клеточного цикла. Истощение Кі 67 нарушало нуклеологенез, но не ингибировало процессинг пре-рРНК. (Sobecki M., Mrouj K., Camasses A. et al., 2016).

В нашем исследовании пролиферация лимфоцитов тимуса усиливалась в группе мышей, содержавшихся в условиях естественного фотопериода и получавших мелатонин (II экспериментальная группа). Отсутствие фотопериода приводит к незначительному снижению интенсивности пролиферации лимфоцитов тимуса (III экспериментальная группа). Введение мелатонина в условиях отсутствия фотопериода восстанавливает интенсивность пролиферации лимфоцитов.

Таким образом, тимус мышей, подвергшихся изменению фотопериода, не обнаруживал значимых морфологических отклонений. Отсутствие фотопериода ослабляет пролиферативный ответ на мелатонин. Недостаточный ответ на мелатонин был обусловлен более низким содержанием активно пролиферирующих Кі 67-позитивных лимфобластов по сравнению с контрольными значениями.

5.1.2. Bcl 2-позитивные клетки

В настоящее время исследование молекулярных механизмов апоптоза является актуальной проблемой иммунологии. Известен комплекс белков семейства Bcl 2, считающийся главным регулятором апоптоза, программы клеточного самоубийства, крайне важной для развития и поддержания гомеостаза.

Продукт гена Bcl 2 — белок Bcl 2 — является важнейшим

Продукт гена Bcl 2 – белок Bcl 2 – является важнейшим репрессором апоптоза. Он располагается на цитоплазматической поверхности внешней мембраны митохондрий, эндоплазматическом ретикулуме и ядерной оболочке и может регистрировать повреждения этих структур и влиять на их поведение, быть может, изменяя транспорт малых белковых молекул. Bcl 2 является важнейшим репрессором апоптоза, обладая двойной функцией – ионного канала и адапторного белка.

При оптимальных условиях роста Bcl 2 обеспечивает переход клеток в покоящееся состояние и задерживает вхождение в митотический цикл. В периферических иммунных органах экспрессия антиапоптозных белков сопряжена с защитой от апоптоза в течение нескольких дней, необходимых для

развития иммунного ответа. Установлено, что среди гибнущих клеток наблюдается больше Bcl 2-негативных клеток (Лузикова Е.М., Ефимова О.А., 2009). Считается, что нарушение экспрессии Bcl 2, например, в случае транслокации Bcl 2 в локус тяжелой цепи Ig, является причиной фолликулярной лимфомы.

Локализуясь во внешней мембране митохондрий, Всl 2 играет важную роль в продвижении клеточной выживаемости и ингибировании действий проапоптических белков. Ингибирование каспазы 9 происходит за счёт предотвращения выхода цитохрома С из митохондрий (Hardwick J.M., 2013). Участвует в регуляции слияния и деления митохондрий. В здоровой ткани эти белки встречаются в В-лифоцитах и Т-лимфоцитах. При фолликулярной лимфоме, а также во многих других формах рака количество Всl 2-позитивных клеток значительно увеличивается.

В тимусе контрольных животных Bcl 2-позитивные клетки встречаются как в корковом, так и в мозговом веществе тимуса. В мозговом веществе исследуемые клетки встречаются редко (табл. 15). В корковом веществе клеток больше. В субкапсулярной зоне коркового вещества долек Bcl 2-позитивные клетки концентрируются и выстраиваются в 1-2 ряда (см. рис. 46).

Пребывание мышей в условиях постоянного затемнения не сказывается на изменении микроморфологии селезёнки. Поступление мелатонина в течение четырёх недель приводит к изменению морфометрических параметров селезёнки: наблюдается увеличение среднего веса селезёнки как у животных, содержавшихся на свету, так и у животных, находившихся в условиях затемнения (табл. 15). Увеличивается количество лимфоидных узелков от 4 ± 0.2 в контрольной группе до 15 ± 0.8 во II экспериментальной группе (р = 0.004) и до 17 ± 1.4 (р = 0.001) в III экспериментальной группе (рис. 48, табл. 15).

Таблица 15 Влияние мелатонина на Bcl 2-позитивные клетки тимуса в разных световых условиях ($M\pm m$)

Параметр сравнения Bcl 2-пози-тивных клеток		I	II	III	IV
Мозговое вещество	Количест- во клеток на площа- ди 1 мм ²	450 ± 43	532 ± 16 p = 0,002*	330 ± 42 p < 0,001**	483 ± 29 p = 0.001*** p = 0.005****
	Площадь (средняя из 100 клеток)	2915 ± 321	3123 ± 189 p = 0.005*	2988 ± 360 p = 0,005**	5125 ± 456 p = 0.001*** p = 0.003****
	Оптиче- ская плот- ность	$0,616 \pm 0,1$	0,270 ± 0,01 p < 0,0001*	$0,465 \pm 0,01$ p = 0,0005**	$0,347 \pm 0,01 \\ p < 0,0001*** \\ p = 0,0001****$
Корковое вещество	Количество клеток на площа- ди 1 мм ²	760 ± 74	802 ± 37 p = 0,0001*	704 ± 27 p = 0,001**	842 ± 39 $p = 0.002***$ $p = 0.001****$
	Площадь (средняя из 100 клеток)	2576 ± 258	2606 ± 275 p = 0,002*	3331 ± 281 p = 0,006**	3937 ± 496 p = 0.05*** p = 0.002****
	Оптиче- ская плот- ность Bcl 2+кле- ток	$0,996 \pm 0,01$	$0,551 \pm \pm 0,005$ p = 0,0005*	0,857 ± ± 0,007 p = 0,001**	$0,559 \pm 0,01$ p = 0,0001*** p = 0,0001****

^{*} По сравнению с І группой.

^{**} По сравнению с І группой.

^{***} По сравнению с III группой.

^{****} По сравнению со ІІ группой.

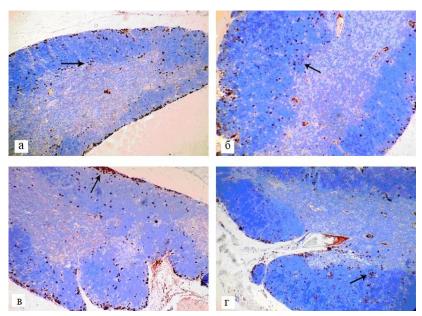


Рис. 48. Всl 2-позитивные клетки в тимусе мышей, содержавшихся в разных световых условиях: a — естественные световые условия; δ — поступление мелатонина в естественных световых условиях; ϵ — условия затемнения; ϵ — поступление мелатонина в условиях затемнения. Увелич. 100

Содержание лабораторных мышей в условиях затемнения не оказывает влияния на количество Bcl 2-позитивных клеток в корковом веществе дольки тимуса, а в мозговом веществе наблюдается снижение количества исследуемых клеток на 27 % (p < 0.01). Введение мелатонина животным, содержавшимся в естественных световых условиях (II группа), приводит к увеличению количества исследуемых клеток на 16,5 % (p = 0.005) в мозговом веществе тимуса, а в корковом веществе – к увеличению на 19,7 % (p = 0.0001) (рис. 49).

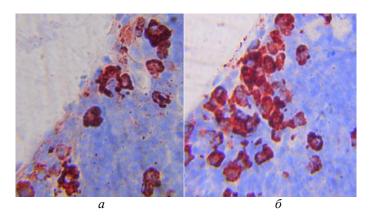


Рис. 49. Всl 2-позитивные клетки субкапсулярной зоны тимуса мышей, содержавшихся в условиях естественного фотопериода: а — контрольная группа; б — животные, получавшие мелатонин (II группа). Увелич. 1000

При введении мелатонина животным, содержавшимся в темноте, количество клеток в мозговом веществе увеличивается на 46% (p < 0,001), а в корковом веществе — на 19,6% (p = 0,002). Эти результаты определяются способностью мелатонина стимулировать пролиферацию лимфоцитов, которая, вероятно, усиливается, если животные, находятся в условиях затемнения. Оптическая плотность Bcl 2 белка в клетках коркового и мозгового вещества снижается (см. табл. 15).

При введении мелатонина животным II группы наблюдается снижение экспрессии Bcl 2 в клетках коркового вещества долек тимуса на 45% (р < 0,0001), а в клетках мозгового — на 56% (р = 0,008). Введение мелатонина животным IV группы вызывает снижение экспрессии в клетках мозгового вещества на 26% (р < 0,001), а в клетках коркового вещества — на 35% (р < 0,0001).

Таким образом, мелатонин, независимо от условий освещения, приводит к увеличению количества Bcl 2-позитивных клеток, но экспрессия исследуемого ингибитора апоптоза Bcl 2 снижается.

Интенсивность апоптоза в тимусе – показатель его нормальной работы. Резкие изменения интенсивности апоптоза в центральном органе иммунитета могут привести к отклонениям

в работе иммунной системы (Vishwas D.K., Haldar C., 2013). Вероятно, компенсаторное снижение экспрессии Bcl 2 связано с увеличением количества Bcl 2-позитивных клеток (Лузикова Е.М., Оганесян Л.В. и др., 2018).

5.2. Исследование процессов пролиферации и апоптоза лимфоцитов селезёнки

5.2.1. Кі 67-позитивные клетки селезёнки

Кі 67-позитивные клетки — активно пролиферирующие клетки, в селезёнке контрольных животных располагаются в красной и белой пульпе. В лимфоидных узелках селезёнки вышеназванные клетки встречаются единично (см. рис. 52, I). В красной пульпе процессы пролиферации идут активнее. Так, здесь у мышевидных грызунов происходит миелопоэз.

В белой пульпе селезёнки животных, находящихся в условиях естественного освещения, под влиянием мелатонина наблюдается усиление пролиферации лимфоцитов в 5,2 раза. В красной пульпе наблюдается аналогичная тенденция. В естественных условиях освещения под влиянием мелатонина отмечается увеличение интенсивности пролиферации в 4,6 раза.

Условия постоянного затемнения оказывают стимулирующий эффект на пролиферацию белой пульпы селезёнки — она увеличивается в 2,8 раза. Но нахождение животных в условиях затемнения приводит к резкому усилению синтеза белка Кі 67 в белой пульпе селезёнки (рис. 50, 51).

Условия постоянного затемнения приводят к увеличению пролиферации клеток в 3,6 раза. Недостаток света приводит к снижению синтеза Ki 67.

Введение мелатонина в условиях постоянного затемнения приводит к ослаблению интенсивности пролиферации в белой пульпе в 6 раз. Введение мелатонина животным, находившимся в условиях затемнения, снижает синтез Кі 67 до контрольных значений. Введение мелатонина в условиях постоянного затемнения приводит к ослаблению интенсивности пролиферации в красной пульпе в 2,3 раза.

Введение мелатонина в условиях постоянного затемнения приводит к ослаблению интенсивности пролиферации: по срав-

нению с введением мелатонина в условиях естественного освещения в белой пульпе в 31,3 раза.

Введение мелатонина в условиях постоянного затемнения приводит к ослаблению интенсивности пролиферации: по сравнению с условиями затемнения в белой пульпе в 16,3 раза.

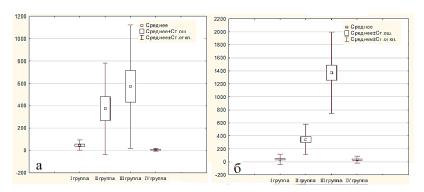


Рис. 50. Коэффицент экспрессии Ki 67 в белой (a) и красной (δ) пульпе селезёнки

Введение мелатонина в условиях постоянного затемнения приводит к ослаблению интенсивности пролиферации: по сравнению с условиями затемнения в красной пульпе в 8,4 раза.

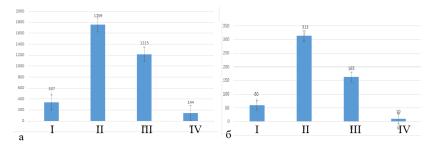


Рис. 51. Влияние фотопериода на количество Кі 67-позитивных клеток красной (a) и белой пульпы (δ) селезёнки

Таким образом, фотопериод влияет на миелоидный и лимфоидный гемопоэзы в селезёнке мышей, отсутствие фотопериода снижает пролиферативный ответ как в красной, так и в белой пульпе селезёнки.

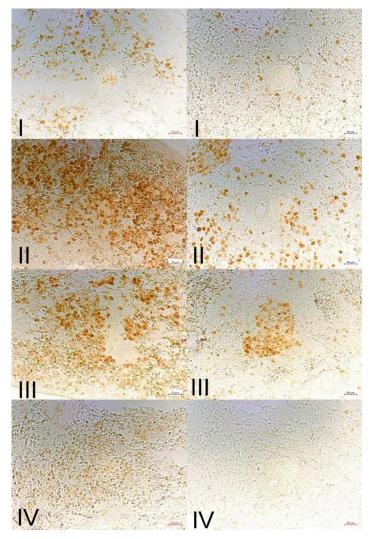


Рис. 52. Увелич. 400. Влияние экзогенного мелатонина на Кі 67-позитивные клетки красной (левая колонка фотографий) и белой (правая колонка фотографий) пульпы селезёнки в разных световых условиях:

I — условие естественной смены дня и ночи; II — естественная смена дня и ночи с введением мелатонина; III — условие затемнения; IV — условие затемнения с введением мелатонина

5.2.2. Bcl 2-позитивные клетки селезёнки

Регулятор апоптоза Bcl 2 – внутриклеточный белковый фактор, основной представитель семейства Bcl 2. Белок Bcl 2 является главным регулятором апоптоза, программы клеточного самоубийства, крайне важной для развития, гомеостаза тканей и предохранения от патогенеза. Bcl 2-позитивными являются незрелые предшественники Т и В лимфоцитов, CD 4 CD8 тимоциты, зрелые долгоживущие Т- и В-лимфоциты (Лузикова Е.М., Оганесян Л.В. и др., 2018). Bcl 2-позитивные клетки селезёнки мало изучены. В рассмотренных нами литературных источниках не было данных о морфотипах Bcl 2-позитивных клеток и об их распределении в паренхиме селезёнки.

В селезёнке контрольных мышей Bcl 2-позитивные клетки локализуются в красной пульпе, единичные исследуемые клетки встречаются в периартериальных лимфоидных муфтах.

В ходе работы было установлено, что условия затемнения не влияют на количество лимфоидных узелков. При введении мелатонина в условиях естественного освещения и в условиях затемнения количество лимфоидных узелков увеличивается (табл. 16).

Таблица 16 Макро- и микрометрические показатели селезёнки мышей разных экспериментальных групп ($M\pm m$)

	Группа экспериментальных мышей					
Сравнительный	Условия ес-	тественного	Условия затемнения			
показатель	освет	цения				
	I	II	III	IV		
Масса селезёнки	$0,19 \pm 0,02$	$0,34 \pm 0,05$	$0,17 \pm 0,01$	$0,22 \pm 0,02$		
		p = 0.01*	p = 0.003*	p = 0.002***		
				p = 0.01***		
Кол-во ЛУ	4 ± 1	15 ± 3	5 ± 1	6 ± 1		
в поле зрения,		p = 0.004*	p = 0.002*	p = 0.02***		
увел. 10 × 10				p = 0.003****		
Кол-во первич-	1 ±0,5	13 ±4	4 ± 1	5 ± 3		
ных ЛУ		p = 0.002*	p = 0.006*	p = 0.001***		
				p = 0.007****		

Окончание табл. 16

	Группа экспериментальных мышей				
Сравнительный	Условия естественного		Условия затемнения		
показатель	освещения				
	I	II	III	IV	
Кол-во вторич-	$3 \pm 0,4$	2 ± 1	$1 \pm 0,5$	1 ± 3	
ных ЛУ		p = 0.01*	p = 0.005*	p = 0.002***	
				p = 0.04****	
Кол-во Bcl 2-	20 ± 0.3	310 ± 3	50 ± 1	910 ± 5	
позитивных кле-		p = 0.001*	p = 0.001*	p = 0.001***	
ток в красной				p = 0.02****	
пульпе площадью					
1 mm ²					
Кол-во Bcl 2-по-	$30 \pm 0,4$	690 ± 4	20 ± 0.5	230 ± 2	
зитивных клеток		p = 0.04*	p = 0,001*	p = 0.01***	
в белой пульпе				p = 0,001****	
площадью 1 мм ²					
Оптическая	$0,63 \pm 0,04$	$0,55\pm0,1$	$0,62\pm0,06$	$0,61\pm0,02$	
плотность Bcl 2-					
позитивных кле-					
ток белой пульпы					
Оптическая	$0,15 \pm 0,01$	$0,17 \pm 0,02$	0.14 ± 0.04	$0,18 \pm 0,01$	
плотность Bcl 2-					
позитивных кле-					
ток красной					
пульпы					

^{*} По сравнению с І группой.

Также в ходе собственных исследований установлено, что условия затемнения вызывают уменьшение количества клеток в белой пульпе на 33% (p = 0.001), а в красной пульпе — увеличение на 60% (p = 0.001). Экзогенный мелатонин, вводимый животным, содержавшимся в условиях естественного освещения, вызывает увеличение количества клеток в белой пульпе на 95%, а в красной пульпе — на 94% (p = 0.04) (рис. 53).

^{**} По сравнению с І группой.

^{***} По сравнению с III группой.

^{****} По сравнению со ІІ группой.

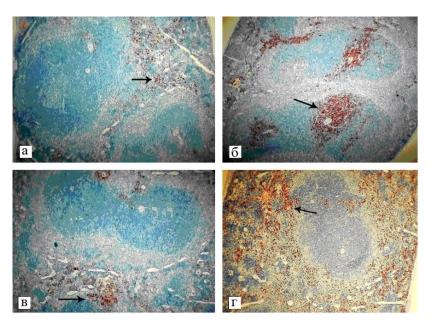


Рис. 53. Всl 2-позитивные клетки в селезёнке мышей разных экспериментальных групп: a — естественные световые условия; δ — поступление мелатонина в естественных световых условиях; ϵ — условия затемнения; ϵ — поступление мелатонина в условиях затемнения. Увелич. $\times 10$

Введение мелатонина животным, содержавшимся в условиях затемнения, вызывает увеличение количества исследуемых клеток в белой пульпе на 91% (p = 0,01), а в красной — на 95% (p = 0,001). В селезёнке не выявляется значимых изменений экспрессии Bcl 2 белка в ответ на изменение светового режима, а на введение мелатонина при любом световом режиме Bcl 2-позитивные клетки отвечают незначительным увеличением экспрессии.

Мелатонин и глюкокортикоидные гормоны в отношении пролиферативных процессов являются антагонистами. Глюкокортикоиды являются классическими индукторами апоптоза. Выявлено, что глюкокортикоидные гормоны вызывают массовую гибель лимфоцитов белой пульпы селезёнки. В меньшей степени чувствительны к действию этих гормонов лимфоциты глубокой зоны красной пульпы (ГЗКП). Кроме того, глюкокор-

тикоиды снижают образование и увеличивают распад компонентов системы комплемента, блокируют Fc-рецепторы иммуноглобулинов, подавляют функции лейкоцитов и макрофагов. В частности, глюкокортикоидные гормоны вызывают изменение количества макрофагов, тучных клеток в разных морфофункциональных зонах селезёнки. Литературные данные о влиянии глюкокортикоидов на экспрессию Bcl 2 противоречивы: по одним данным, Bcl 2 защищает клетки от апоптоза, индуцированного дексаметазоном, по другим — Bcl 2 является инициатором апоптоза, индуцированного глюкокортикоидами в лимфоидных клетках in vivo.

Мелатонин как регулятор апоптоза неоднозначно действует на центральные и периферические иммунные органы. Модуляция апоптоза происходит не только путём изменения экспрессии Всl 2 белка, но и путём изменения количества Всl 2-позитивных клеток. Мелатонин увеличивает количество Всl 2-позитивных клеток в тимусе и селезёнке независимо от световых условий, но в тимусе экспрессия исследуемого антиапоптозного белка снижается, а в селезёнке незначительно возрастает (Лузикова Е.М., Оганесян Л.В. и др., 2018).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В современном мире, создав себе особую среду обитания — ноосферу, человек освободился от жесткого диктата внешней среды, расстраивая при этом древние циркадные механизмы. Искусственное ночное освещение, ночное бодрствование, нарушение сезонной ритмичности снижают секрецию мелатонина, что нарушает синхронизацию циркадных ритмов. Иммунная система также подвержена циклическим влияниям и содержит самоподдерживающиеся циркадные часы, ключевым механизмом которых является мелатонин. Иммунные клетки демонстрируют специфическую циркадную ритмичность, которая может быть точно отрегулирована мелатонином.

Одним из способов реализации адаптогенного действия мелатонина является воздействие на систему биогенных аминов иммунных органов. Нахождение мышей в условиях постоянного затемнения приводит к увеличению свечения гистамина в исследуемых клетках по сравнению с контрольными животными, содержавшимися в обычных условиях освещения.

Поступление мелатонина в организм лабораторных мышей, независимо от сроков и условий освещения, приводит к снижению интенсивности свечения гистамина во всех содержащих его клетках дольки тимуса. Отсутствие света не оказывает влияние на синтез серотонина в аминпродуцирующих клетках диффузной эндокринной системы границы коркового и мозгового вещества долек, но подавляет аминпоглотительные свойства в клетках диффузной эндокринной системы коркового вещества долек тимуса.

Постоянное освещение не оказывает влияние на аминпоглотительные свойства клеток диффузной эндокринной системы коркового вещества долек, но способствует накоплению серотонина в аминпродуцирующих клетках границы коркового и мозгового вещества долек тимуса. Независимо от фотопериода экзогенный мелатонин повышает содержание серо-

тонина в клетках диффузной эндокринной системы тимуса, что более выражено в условиях постоянного освещения.

Содержание катехоламинов в лимфоцитах коркового и мозгового вещества долек тимуса мышей не зависит от условий освещения, в которых содержались животные. Введение мелатонина увеличивает содержание катехоламинов в лимфоцитах мозгового вещества дольки. Ежедневное поступление мелатонина приводит к снижению продукции катехоламинов, серотонина в дендритных береговых клетках и во внутрифолликулярных люминесцирующих клетках селезёнки и к увеличению количества серотонинпозитивных клеток в красной пульпе селезёнки как у животных, находившихся в естественных световых условиях, так и у животных, содержавшихся в темноте.

Фотопериод оказывает влияние на клетки диффузной эндокринной системы, а введение мелатонина корректирует отсутствие фотопериода. Отсутствие фотопериода не оказывает значительного влияния на клетки макрофагального ряда (Іба 1-позитивных клеток) тимуса, но введение мелатонина животным, содержавшимся в естественных световых условиях, приводит к увеличению общего количества Іба 1-позитивных клеток в тимусе и снижению этого показателя в селезёнке.

Мелатонин, вводимый животным в естественных световых условиях, стимулирует процессы вторичной селекции в тимусе, а вводимый в условиях затемнения — стимулирует процесс первичной селекции в корковом веществе и вторичной селекции в мозговом веществе. Мелатонин активизирует пролиферацию лимфоцитов в тимусе, наиболее эффективная стимуляция наблюдается у животных, содержавшихся в естественных световых условиях.

Условия постоянного затемнения оказывают стимулирующий эффект на пролиферацию белой пульпы селезёнки. Введение мелатонина в условиях затемнения приводит к снижению интенсивности пролиферации до контрольных значений, в условиях постоянного затемнения — к ослаблению интенсивности пролиферации в красной пульпе. Поступление мелатонина неза-

висимо от световых условий приводит к снижению экспрессии антиапоптотического белка Bcl 2 и увеличению количества Bcl 2-позитивных клеток.

Таким образом, адаптогенное действие мелатонина зависит от фотопериода, осуществляется путём стимулирования или ингибирования пролиферации иммунных клеток, за счет ингибирования апоптоза и воздействия на макрофаги и клетки ДЭС через систему биогенных аминов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Авакян О.М. Современные данные о механизме высвобождения и захвате катехоламинов, возможности и перспективы их фармакологической регуляции / О.М. Авакян // Журнал всесоюзного химического общества им. Д.И. Менделеева. 1986. Т. 21. С. 85—90.
- 2. Акмаев И.Г. От нейроэндокринологии к нейроиммуноэндокринологии / И.Г. Акмаев, В.В. Гриневич // Бюл. эксперимент. биол. и мед. -2000. -T. 131, № 1. -C. 22–32.
- 3. Акмаев И.Г. Современные представления о взаимодействии нервной, эндокринной и иммунной систем / И.Г. Акмаев // Морфология. -1993. -№ 9-10. -C. 36.
- 4. Акмаев И.Г. От нейроэндокринологии к нейроиммунологии / И.Г. Акмаев, В.В. Гриневич // Бюл. эксперимент. биол. и мед. -2001. Т. 131, № 6. С. 16.
- 5. Альперина Е.Л. Центральные механизмы допаминергической иммуномодуляции: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.17 / Альперина Елизавета Лазеровна. М., 1998. 34 с.
- 6. Артемьева И.Л. Соматостатин-позитивные структуры тимуса / И.Л. Артемьева, В.Е. Сергеева // Вестник Чувашского университета. 2013. № 3. С. 368—371.
- 7. Артемьева И.Л. Структуры тимуса, содержащие нейропептид соматостатин / И.Л. Артемьева, В.Е. Сергеева // Бюл. эксперимент. биол. и мед. -2015.-T.159, № 3.-C.369-373.
- 8. Арушанян Э.Б. Мелатонин снижает порог светочувствительности сетчатки глаза человека / Э.Б. Арушанян, К.Б. Ованесов // Эксперимент. и клин. фармакология. 1999. Т. 62, № 2. С. 58–60.
- 9. Арушанян Э.Б. Гормон эпифиза мелатонин и его лечебные возможности / Э.Б. Арушанян // Рус. мед. журнал. 2005. № 26. С. 1755—1760.
- 10. Арушанян Э.Б. Гормон эпифиза мелатонин новое ноотропное средство? / Э.Б. Арушанян // Эксперимент. и клин. фармакология. 2005. Т. 68, № 3. С. 74—79.
- 11. Арушанян Э.Б. Гормон мозговой железы эпифиза мелатонин универсальный естественный адаптоген / Э.Б. Арушанян, Э.В. Бейер // Успехи физиологических наук. 2012. № 3. С. 82— 100.
- 12. Бахмет А.А. Реакция органов иммунной системы в ответ на воздействие эмоционального стресса при введении синтетического аналога АКТГ Семакса / А.А. Бахмет // Морфология. 2004. Т. 126. С. 17.

- 13. Беспятых А.Ю. Мелатонин: теория и практика / А.Ю. Беспятых, В.Я. Бродский, О.В. Бурлакова и др.; под ред. С.И. Рапопорта, В.А. Голиченкова. М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2009. С. 100.
- 14. Бибик Е.Ю. Современные представления о морфогенезе первичного лимфоидного органа / Е.Ю. Бибик, А.Ю. Берест // Укр. морфол. альманах. 2011. T. 9, № 3. C. 43-47.
- 15. Бочкарев В.А. Сравнение гистохимических свойств различных популяций (перитонеальных и мезентериальных) тучных клеток в условиях дисбаланса биогенных аминов (экспериментальное люминесцентно-гистохимическое исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.00.11 / Бочкарев Владимир Арнольдович. М., 1988. 16 с.
- 16. Вайсфельд И.Л. Гистамин в биохимии и физиологии / И.Л. Вайсфельд, Г.Н. Кассиль. М.: Наука, 1981. С. 277.
- 17. Виноградов С.Ю. Функциональная морфология внутриорганного биоаминового обеспечения яичников и матки в динамике полового цикла / С.Ю. Виноградов, С.В. Диндяев // Морфология. -2010. Т. 137, № 4. С. 46-47.
- 18. Виноградов С.Ю. Серотонин и его участие в регуляции функции щитовидной железы / С.Ю. Виноградов, Ю.В. Погорелов // Успехи современной биологии. -1984. Вып. 2. Т. 98, № 5. С. 206–218.
- 19. Воронкова О.В. Серотониновый индекс в биоаминсодержащих структурах селезёнки при водном воздействии кальция / О.В. Воронкова // Морфология в теории и практике: материалы Всерос. конф. Чебоксары, 2008. С. 59–60.
- 20. Голенкова В.А. Нейромедиаторные биогенные амины в клетках тимуса лабораторных мышей в эксперименте с поступлением водорастворимого кремния / В.А. Голенкова, С.С. Смирнова, В.С. Гордова, В.Е. Сергеева // Человек. Гражданин. Ученый: сб. тр. регион. фестиваля студентов и молодежи. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2017. С. 454—455.
- 21. Голенкова В.А. Катехоловые амины, серотонин, гистамин в тканях селезёнки при хроническом поступлении кремния в организм лабораторных крыс / В.А. Голенкова, С.С. Смирнова, В.С. Гордова, В.Е. Сергеева // Студенческая медицинская наука XXI века и І форум молодежи научных обществ: материалы XVI междунар. науч. общ-в. Витебск: ВГМУ, 2016. С. 42–44.
- 22. Гонтова И.А. Особенности сочетанного влияния асимметрии тимуса и головного мозга на гуморальный иммунный ответ / И.А. Гонтова, В.В. Абрамов, В.А. Козлов // Иммунология. -2002. -T. 23, № 1. -C. 22-26.

- 23. Гордова В.С. Структурно-функциональное состояние лимфоидных органов лабораторных крыс при длительном поступлении соединения кремния с питьевой водой: дис. ... канд. мед. наук: 03.03.04 / Гордова Валентина Сергеевна. – Саранск, 2014. – 164 с.
- 24. Гордова В.С. Тучные клетки при окраске толуидиновым синим в эксперименте / В.С. Гордова, И.П. Иванова, В.Е. Сергеева // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Сер.: Естественные и медицинские науки. $-2018.- \ensuremath{\mathbb{N}}\xspace 2.- C. 97–104.$
- 25. Гордова В.С. Преимущества использования методики с применением «Avidin-Alexa Fluor 488» при изучении тучных клеток в органах лабораторных грызунов / В.С. Гордова, Л.А. Басова, А.Д. Смородченко, В.Е. Сергеева // Аллергология и иммунология. 2015. Т. 16, № 4. С. 406.
- 26. Гордова В.С. Нейромедиаторы лимфоидных органов (функциональная морфология) / В.С. Гордова // Здравоохранение Чувашии. 2013. N = 4. C.92-96.
- 27. Гордова В.С. Исследование катехоламинсодержащих структур тимуса мышей при введении хорионического гонадотропина / В.С. Гордова, Л.Р. Ялалетдинова, С.А. Ястребова, В.Е. Сергеева // Современные проблемы науки и образования. 2017. № 4. URL: http://scienceeducation.ru/ru/article/view?id=26713 (дата обращения: 29.03.2020).
- 28. Гордова В.С. Антигенпрезентирующие клетки лимфоидных органов / В.С. Гордова, И.М. Дьячкова // Вестник Чувашского университета 2014. Вып. 2. С. 217–224.
- 29. Гордон Д.С. Нейромедиаторы лимфоидных органов / Д.С. Гордон, В.Е. Сергеева, И.Г. Зеленова. Л.: Наука, 1982. 128 с.
- 30. Гордон Б.М. Цитобиоаминная система тимуса и адаптация / Б.М. Гордон. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2000. 242 с.
- 31. Гордон Д.С. Идентификация люминесцирующих гранулярных клеток тимуса с дендритными макрофагами / Д.С. Гордон, В.Е. Сергеева, А.Т. Смородченко и др. // Бюл. эксперимент. биол. и медицины. 2001.-T.132, N 2.-C.118-120.
- 32. Гришман А.Ю. Влияние гистамина и дипразина (пипольфена) на течение экспериментального амилоидоза у мышей / А.Ю. Гришман // Архив патологии. -1975. -№ 7. C. 7-12.
- 33. Губарев Е.А. К механизму действия гистамина и антигистаминных препаратов на проницаемость гистогематических барьеров / Е.А. Губарев // Фармакология и токсикология. -1964. -№ 5. C. 603–607.
- 34. Гусельникова В.В. Возрастные изменения популяции тучных клеток тимуса мыши / В.В. Гусельникова // Мед. акад. журнал. -2016. Т. 16, № 3. С. 178–181.

- 35. Гусельникова В.В. Нейро-мастоцитарные взаимодействия в тимусе / В.В. Гусельникова, А.В. Полевщиков // Вестник уральской медицинской академической науки. -2014. -№ 3 (49). C. 23–25.
- 36. Гущин И.С. Особенности гистаминвысвобождающего действия МСД-пептида из яда пчел / И.С. Гущин, А.И. Мирошников, Б.И. Мартынов // Бюл. эксперимент. биол. 1977. № 7. С. 78.
- 37. Гущин И.С. Действие папаверина и простагландина Е на вызванное веществом 48/80 высвобождение гистамина из тучных клеток крыс / И.С. Гущин, Б. Фредхольм, Б. Увнас // Патол. физиология и эксперимент. терапия. 1975. № 6. С. 3—7.
- 38. Девойно Л.В. Моноаминергические системы в реализации иммунных реакций (серотонин, дофамин) / Л.В. Девойно, Р.Ю. Ильюченко. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1983. С. 243.
- 39. Диндяев С.В. Функциональная морфология биоаминового обеспечения матки / С.В. Диндяев, Ф.А. Ромашин, Д.В Касаткин и др. // Морфология в теории и практике: материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посв. 95-летию со дня рождения д-ра мед. наук, профессора Дины Семеновны Гордон. Чебоксары, 2017. Вып. 3. С. 147—150.
- 40. Дьячкова И.М. Исследование популяции тучных клеток тимуса при длительном воздействии соединений кремния и кальция / И.М. Дьячкова, В.Е. Сергеева, С.П. Сапожников // Вестник Чувашского государственного педагогического университета им. И.Я. Яковлева. $2010. N \cdot 4$ (68). С. 50-55.
- 42. Дюговская Л.А. Роль гистамина в регуляции супрессивной активности тимоцитов / Л.А. Дюговская, С.В. Тимченко // Актуальные проблемы соврем. патофизиологии: тез. докл. Всесоюз. конф. Киев, $1981.-C.\ 126-127.$
- 43. Елаев Н.С. Норадреналин как регулятор синтеза РНК, K^+ АТФ-азы в нервных клетках / Н.С. Елаев // Проблемы эндокринологии. 1981. Т. 27, № 1. С. 58—62.
- 44. Елисеева Л.С. Специфическое связывание серотонина клетками интактных и иммунизированных мышей / Л.С. Елисеева, Л.Е. Стефанович, В.С. Панова // Регуляция иммунного гомеостаза: тез. Всесоюз. симп. Л.: Изд-во НИИ эксперимент. мед., 1982. С. 139–140.

- 45. Забродский П.Ф. Роль активации симпатико-адреналовой системы в реализации основных иммунных реакций при острой интоксикации фосфорорганическими соединениями / П.Ф. Забродский, В.Г. Германчук // Бюл. эксперимент. биол. и мед. 2001. Т. 132, № 10. С. 413–415.
- 46. Завьялов А.В. Миоэлектрическая активность и функциональные взаимоотношения различных отделов гастродуоденального комплекса в условиях ваготомии и на фоне действия серотонина / А.В. Завьялов, В.Д. Зотолокин, А.П. Симоненко и др // Бюл. эксперимент. биол. и мед. − 1999. − Т. 127, № 7. − С. 384.
- 47. Зеленова И.Г. Адренергическая иннервация аппендикса кролика / И.Г. Зеленова // Макро-микроструктура тканей в норме, патологии и эксперименте: сб. ст. Чебоксары: Изд-во. Чуваш. ун-та, 1979. С. 17–20.
- 48. Зеленова И.Г. Динамика моноаминов в лимфоидных органах млекопитающих / И.Г. Зеленова, З.И. Михеева // Макро-микроструктура тканей в норме, патологии и эксперименте: сб. ст. Чебоксары: Издво. Чуваш. ун-та, 1979. С. 20—25.
- 49. Каладзе Н.Н. Итоги и перспективы изучения физиологических, патогенетических и фармакологических эффектов мелатонина / Н.Н. Каладзе, Е.М. Соболева, Н.Н. Скоромная // Здоровье ребенка. 2010. Т. 23, № 2. URL: http://www.mif-ua.com/archive/article/12766
- 50. Капитонова М.Ю. Иммуногистохимическая характеристика тимуса при иммобилизационном стрессе / М.Ю. Капитонова, М. Улла, Б.С. Ратна и др. // Морфология. 2004. Т. 126, \mathbb{N} 4. С. 56.
- 51. Карапетян Р.О. Рецептор-зависимый биосинтез и захват кате-холаминов / Р.О. Карапетян, А.А. Галоян // Физика и биохимия медиаторных процессов: тез докл. V Всесоюз. конф. М., 1990. С. 134.
- 52. Кветной И.М. Нейроиммуноэндокринология химическая общность регуляторных систем / И.М. Кветной // Цитокины и воспаление. 2002.— Т. 1, № 2. С. 55—56.
- 53. Киселева Р.Е. Роль серотонина и гистамина в патогенезе некоторых заболеваний / Р.Е. Киселева, Н.В. Альба, Л.П. Молина и др. // Соврем. аспекты хирург. эндокринологии. Саранск, 1997. С. 314–315.
- 54. Ковальчук Л.В. Антигенные маркёры клеток иммунной системы человека. CD (Cluster Differentiation) система / Л.В. Ковальчук. М.: РГМУ МЗ и СР РФ, 2005. 82 с.
- 55. Кондрашевская М.В. Тучные клетки и гепарин ключевые звенья в адаптативных и патологических процессах / М.В. Кондрашевская // Вестник РАМН. 2010. № 6. C. 49–54.

- 56. Коржевский Д.Э. Основы гистологической техники / Д.Э. Коржевский, А.В. Гиляров. СПб.: СпецЛит, 2010. 95 с.
- 57. Корнева Е.А. Нейрогуморальное обеспечение иммунного гомеостаза / Е.А. Корнева, В.М. Клименко, Э.К. Шхинек. Л.: Наука, 1978. –176 с.
- 58. Корнева Е.А. Регуляция защитных функций организма / Е.А. Корнева, В.А. Шекоян. Л.: Наука, 1982. 139 с.
- 59. Кремер Н.Ш. Математическая статистика / Н.Ш. Кремер / ВЗФЭИ. М.: Экон. образование, 1992. 112 с.
- 60. Крохина Е.М. Симпатический (адренергический) компонент эффективной иннервации сердечной мышцы / Е.М. Крохина, П.Н. Александров // Кардиология. 1969. Т. 9, № 3. С. 97–102.
- 61. Лабунец И.Ф. Возрастные особенности изменений клеточного состава костного мозга, мелатонинобразующей функции эпифиза и эндокринной функции тимуса у мышей разных линий / И.Ф. Лабунец // Успехи геронтологии. 2013. № 3. С. 425–431.
- 62. Ландышев И.Ю. Суточные ритмы уровня АКТГ, кортизола и 17-оксикортикостероидов у больных бронхиальной астмой / И.Ю. Ландышев, В.П. Мишук // Терапевтический архив. 1994. № 3. С. 12—15.
- 63. Лебедева Т.И. Клеточный состав тимуса у мышей различного возраста с генетическим детерминированным диабетом / Т.И. Лебедева, В.А. Ремизова // Морфология. 2004. Т. 126, № 4. С. 70.
- 64. Левин Я.И. Мелатонин (мелаксен) в терапии инсомний / Я.И. Левин // РМЖ. 2005. № 7. С. 1–3.
- 65. Левин Я.И. Мелатонин и неврология / Я.И. Левин // РМЖ. 2007. № 24. С. 1851.
- 66. Линднер Д.П. Тучные клетки тканевого гомеостаза и их место в ряду биологических регуляторов / Д.П. Линднер, Э.М. Коган // Арх. пат. -1976. -№ 8. C. 3-14.
- 67. Литвиненко Г.И. Влияние мелатонина на морфофункциональные показатели эпифиза и органов иммунной системы у крыс при естественном световом режиме и круглосуточном освещении / Г.И. Литвиненко, А.В. Шурлыгина, О.Б. Грицык и др. // Бюл. эксперимент. биол. и мед. -2015. -T. 3, N $\!\!\!$ 6. -C. 704–707.
- 68. Литвиненко Г.И. Влияние мелатонина на морфофункциональные показатели эпифиза и органов иммунной системы у крыс при естественном световом режиме и круглосуточном освещении / Г.И. Литвиненко, А.В. Шурлыгина, О.Б. Грицык и др. // Бюл. эксперимент. биол. и мед. − 2015. − Т. 159, № 6. − С. 732−735.

- 69. Лузикова Е.М. Морфо-физиологическая реакция аминосодержащих структур тимуса на введение АКТГ 1–24: учеб. пособие / Е.М. Лузикова, В.Е. Сергеева. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2008. 124 с.
- 70. Лузикова Е.М. Реакция макрофагов селезёнки мышей на поступление мелатонина в зависимости от световых условий / Е.М. Лузикова, В.С. Гордова, В.Е. Сергеева // Acta Natura, спецвыпуск. 2016. Т. 1. С. 180—181.
- 71. Лузикова Е.М. Сочетанное использование метода Фалька-Хилларпа и авидина с флуоресцирующими метками при изучении строения тимуса / Е.М. Лузикова, В.С. Гордова, А.И. Прохорова и др. // Морфология. — 2017. — Т. 151, № 3. — С. 85.
- 72. Лузикова Е.М. Влияние мелатонина на Вс1 2 систему селезёнки и тимуса в разных световых условиях / Е.М. Лузикова, Л.В. Оганесян, К.С. Кулакова, В.Е. Сергеева // Вестник новых медицинских технологий. Электронный журнал. 2018. № 4. С. 265–271.
- 73. Лузикова Е.М. Влияние глюкокортикоидов на морфотипы NSE-позитивных клеток селезёнки / Е.М. Лузикова, В.Е. Сергеева, О.Н. Кириллова и др. // Фундаментальные исследования. -2011. -№ 10-1. -C. 103-106.
- 74. Лузикова Е.М. Морфофункциональная реакция Iba-I и МНС II позитивных клеток селезёнки на введение мелатонина / Е.М. Лузикова, О.А. Шатских, О.А. Ефремова, В.Е. Сергеева // Морфологические ведомости. 2016. Т. 24, № 4. С. 92–96.
- 75. Любовцева Л.А. Тканевая локализация гистамина в структурах вилочковой железы / Л.А. Любовцева, Д.С. Гордон // Макромикроструктура тканей в норме, патологии и эксперименте: сб. ст. Вып. 3. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 1976. С. 18–21.
- 76. Любовцева Л.А. Люминесцентно-гистохимическое исследование аминсодержащих структур костного мозга, тимуса и крови при действии нейромедиаторов и антигенов / Л.А. Любовцева. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 1993. 100 с.
- 77. Матлина Е.Ш. Клиническая биохимия катехоламинов / Е.Ш. Матлина, В.В. Меньшиков. М.: Медицина, 1967. 120 с.
- 78. Мельникова О.В. Цитоархитектоническая организация тучных клеток селезёнки на фоне приема водорастворимого раствора хлорида кальция / О.В. Мельникова, О.В Павлова, В.Е. Сергеева, А.Т Смородченко // Эколого-физиологические проблемы адаптации: материалы XVI Всерос. симпозиума. М.: РУДН, 2015. С. 117–118.
- 79. Медик В.А. Статистика в медицине и биологии. Т. 1: Теоретическая статистика / В.А. Медик, М.С. Токмачев, Б.Б. Фишман. М.: Медицина, 2000.-412 с.

- 80. Мотавин П.А. Гистофизиология сосудистых механизмов мозгового кровообращения / П.А. Мотавин, В.М. Черток. М.: Медицина, 1980.-195 с.
- 81. Науменко К.С. Роль различных типов серотониновых рецепторов в регуляции питьевого поведения и солевого аппетита у крыс Браттолборо с наследственно детерминированным отсутствием вазопрессина / К.С. Науменко, Н.К. Попова, А.Н. Иванова // Бюл. эксперимент. биол. и мед. -2001.-T.131, № 5.-C.504.
- 82. Наумова Е.М. Влияние АКТГ1-24 на местный нейромедиаторный гомеостаз тимуса / Е.М. Наумова, В.Е. Сергеева // Здравоохранение Чувашии. -2005. -№ 2. C. 44-49.
- 83. Наумова Е.М. Гистохимический анализ популяции тучных клеток тимуса мышей при введении АКТГ1-24 / Е.М. Наумова, В.Е. Сергеева // Бюл. эксперимент. биол. и мед. 2004. Т. 138, N 7. С. 107—111.
- 84. Наумова Е.М. Изменение морфофункционального состояния тимуса и селезёнки под влиянием АКТГ1-24 / Е.М. Наумова, В.Е. Сергеева // Морфологические ведомости. М.: Берлин, 2004. № 1–2. С. 71.
- 85. Наумова Е.М. Исследование функциональных связей между аминсодержащими структурами тимуса при иммуносупрессии / Е.М. Наумова, В.Е. Сергеева, Л.Ю. Ильина // Рос. физиол. журнал им. Сеченова. СПб.: Наука, 2004. Т. 90, № 8. С. 129–300.
- 86. Павлова О.В. Морфометрические показатели Iba 1 позитивных клеток тимуса при экспериментальном гипертиреозе / О.В. Павлова, В.Е. Сергеева // Теоретические и прикладные проблемы современной науки и образования: материалы междунар. науч.-практ. конф. Курск, 2015. С. 164–167.
- 87. Петрова Т.Л. Нейромедиаторное обеспечение микроструктур тимуса при овариоэктомии и эстрогенном воздействии: учеб. пособие / Т.Л. Петрова, В.Е. Сергеева. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2002. 130 с.
- 88. Плеханов А.В. Математико-статистические методы обработки информации с применением программы SPSS / А.В. Плеханов. СПб.: Изд-во СПбГУЭФ, 2010. 96 с.
- 89. Погожаева Е.Ю. Мелатонин и его роль в регуляции циркадного ритма воспалительной реакции при ревматоидном артрите / Е.Ю. Погожаева, А.Е. Каратеев, Д.Е. Каратеев // Научно-практическая ревматология. 2008. N 2. C. 54 -61.
- 90. Роймес Б. Микроскопическая техника / Б. Роймес. М., 1954. 490 с.

- 91. Ройт А. Основы иммунологи / А. Ройт. М.: Мир, 1991. 345 с.
- 92. Репина В.П. Влияние различных концентраций катехоламинов на функционирование иммунокомпетентных клеток / В.П. Репина // Экология человека. 2008. \mathbb{N} 2. С. 30–33.
- 93. Ресненко А.Б. Роль интерлейкина (ИЛ)-1В и ИЛ-6 в регуляции гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы при длительном воспалении у крыс / А.Б. Ресненко, Е.Б. Лискина, А.В. Мишарин и др. // Физиология и патология иммунной системы. 2003. Т. 5. С. 173—174.
- 94. Сепиашвили Р.И. Физиология естественных киллеров / Р.И. Сепиашвили, И.П. Балмасова. М.: Медицина-Здоровье, 2005. 456 с.
- 95. Сергеева В.Е. Гистотопография катехоламинов зобной железы млекопитающих / В.Е. Сергеева // Бюл. эксперимент. биол. и мед. 1974. N 24. C. 115-118.
- 96. Сергеева В.Е. Сезонные изменения аминосодержащих структур тимуса в первый час антигенного воздействия / В.Е. Сергеева // Бюл. эксперимент. биол. и мед. 1992. Т. 113, № 3. С. 311–315.
- 97. Сергеева В.Е. Люминесцентно-гистохимическая характеристика ранней реакции моноаминсодержащих структур тимуса на антигенные воздействия / В.Е. Сергеева, Д.С. Гордон. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 1992. 352 с.
- 98. Сергеева В.Е. Сочетание свойств макрофагов и клеток APUD-серии в моноамин-содержащих премедуллярных клетках тимусной дольки / В.Е. Сергеева, А.Г. Гунин, Д.С. Гордон // Морфология. 1994. N = 1-3. С. 159—162.
- 99. Сергеева В.Е. Физиологическое значение мелатонина и его гомеостатическая роль в коже / Е.М. Лузикова, Д.А. Эркенов, Л.В Оганесян // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Сер.: Естественные и технические науки. 2018 № 4. С. 164–168.
- 100. Сергеева В.Е. Изучение структуры популяции тимусных тучных клеток в норме и после введения корпускулярного антигена / В.Е. Сергеева, С.И. Ослопова // Экспериментальная и прикладная морфология. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 1988. С. 25–27.
- 101. Сергеева В.Е. Локализация белка S-100 в структурах тимуса методом непрямой иммуногистохимии / И.В. Спирин // Актуальные проблемы диагностики и лечения в клинике внутренних болезней. Чебоксары: Факел, 2000. С. 104–105.
- 102. Сергеева В.Е. Гистохимический анализ популяций тучных клеток тимуса мышей при введении АКТГ / В.Е. Сергеева, Е.М. Наумова // Бюл. эксперимент. биол. и мед. 2004. Т. 13, № 7 С. 107-111.

- 103. Сергеева В.Е. Воплощение идей Дины Семеновны продолжается / В.Е. Сергеева // Морфология в теории и практике: науч.-практ. конф. с междунар. участием, посв. 95-летию со дня рождения д-ра мед. наук, профессора Дины Семеновны Гордон. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2017. С. 65–71.
- 104. Сергеева В.Е. Люминесцентная гистохимия биогенных аминов в морфо-функциональном состоянии органов и тканей в эксперименте (научно-исторический обзор) / В.Е. Сергеева, В.С. Гордова, Д.С. Гордон // АМЕ. -2017. № 3. С. 30–49. URL: http: //Actamedica-eurasiea.ru/single/2017/3/6
- 105. Сергеева В.Е. К юбилею Дины Семеновны Гордон / В.Е. Сергеева, В.С. Гордова // Морфология. -2017. T. 151, № 2. C. 95–96.
- 106. Сергеева В.Е. Физиологическое значение мелатонина и его гомеостатическая роль в коже / В.Е. Сергеева, Е.М. Лузикова, Д.А. Эркенов // Клиническая медицина. Сер.: Естественные и технические науки. -2018. -№ 4. -C. 164–167.
- 107. Сергеева В.Е. Вклад научной школы профессора Гордон в современные представления о тимусе (научно-исторический обзор) / В.Е. Сергеева, В.С. Гордова, О.В. Павлова, А.Т. Смородченко. URL: http://Acta medica-eurasica. ru /single/2019/24.
- 108. Сергеева В.Е. Нейромедиаторное биоаминное обеспечение структур тимуса и лимфатических узлов при воздействии соматотропным гормоном / В.Е. Сергеева, А.Т. Смородченко, И.В. Спирин // Бюл. эксперимент. биол. и мед. -2000. Т. 129, № 5. С. 591–593.
- 109. Сергеева В.Е. Реакция моноаминсодержащих структур тимуса на экспериментальную тестэктомию / В.Е. Сергеева, И.Л. Сарилова // Бюл. эксперимент. биол. и мед. -2005. -T. 140, № 11. -C. 574–576.
- 110. Спирин И.В. Исследование механизмов иммуномодулирующего действия соматотропного гормона, опосредованного биоаминной клеточной системой тимуса / И.В. Спирин, В.Е Сергеева, С.А. Ястребова и др. // Иммунология. 2004. Т. 25, № 1. С. 21–23.
- 111. Смахтин М.Ю. Применение АКТГ $_{4-10}$ с целью иммунологической коррекции при патологии печени / М.Ю. Смахтин, А.И. Конопля, Л.А. Северьянова // Достижения, проблемы, перспективы фармацевтической науки и практики. Курск, 2001. С. 269–271.
- 112. Смородченко А.Т. Лимфатические узлы в норме и при антигенных воздействиях: учеб. пособие / А.Т. Смородченко. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 1996. 75 с.
- 113. Сорочан П.П. Применение мелатонина в онкологической практике / П.П. Сорочан, И.С. Громакова, Н.Э. Прохач и др. // Междунар. мед. журнал. -2012. N = 3. C. 68-73.

- 114. Ставинская О.А. Серотониновая депривация как фактор регуляции иммунологической реактивности / О.А. Ставинская // Экология человека. 2008. № 1. С. 22–25.
- 115. Стручко Г.Ю. Реакция биоаминсодержащих структур тимуса на введение растворимого антигена / Г.Ю. Стручко, В.Е. Сергеева. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 1999. 128 с.
- 116. Сысоева Л.А. О принадлежности люминесцирующих моноаминсодержащих клеток селезёнки к АПУД-системе / Л.А. Сысоева, А.Г. Гунин // Экспериментальная и прикладная морфология: межвуз. сб. науч. тр. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 1988. С. 112.
- 117. Таюшев К.Г. Эфферентный нервный аппарат тимуса, селезёнки, лимфатических узлов и его реакция на электростимуляцию заднего гипоталамического поля / К.Г. Таюшев, А.П. Пуговкин, В.П. Клименко // Архив анат. гистол. и эмбриол. − 1990. № 2. С. 58.
- 118. Торбек В.Э. Гемомикроциркуляторное русло тимуса потомства при иммунизации беременных крыс антигенами гомологичного мозга / В.Э. Торбек // Морфология. 2004. Т. 126, № 4. С. 123.
- 119. Торбек В.Э. Развитие тимуса в эмбриогенезе при глюкокортикоидном воздействии / В.Э. Торбек // Морфология. 1992. Т. 102, № 3. С. 103-104.
- 120. Трофимов А.В. Гормоны, синтезируемые в желудочно-кишечном тракте, и их физиологические эффекты / А.В. Трофимов, И.В. Князькин, И.М. Кветной // Нейроэндокринные клетки желудочно-кишечного тракта в моделях преждевременного старения. СПб., 2005. С. 52–64.
- 121. Хиндоча П. Высвобождение гистамина из человеческих лей-коцитов под воздействием подкласса Ig G4 в сыворотках аллергических детей / П. Хиндоча, К.Б. Вуд // Аллергия. 1985. Т. 40. С. 523—528.
- 122. Хэм А. Гистология: пер. с англ / А. Хэм, Д. Кормак. М.: Мир, 1983. Т. 2. 254 с.
- 123. Чернух Л.М. Воспаление / Л.М. Чернух. – М.: Медицина, 1979. – 448 с.
- 124. Шатских О.А. Морфологическая характеристика тимуса в условиях поступления мелатонина: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.03.04 / Шатских Оксана Алексеевна; [Место защиты: Казан. гос. мед. ун-т]. Казань, 2015. 23 с.
- 125. Шатских О.А. Исследование корреляционных отношений между биоаминами в структурах тимуса при введении мелатонина / О.А. Шатских, В.Е. Сергеева // Международный научно-исследовательский журнал. 2013. N 6 (13). С. 65–66.

- 126. Шатских О.А. Морфофункциональная реакция натуральных киллеров и макрофагов селезёнки на введение мелатонина животным, содержащимся при различных световых режимах / О.А. Шатских, Е.М. Лузикова // Морфология. 2012. Т. 141, № 1. С. 43–46.
- 127. Шатских О.А. Реакция CD1A- и CD3-позитивных клеток тимуса при введении мелатонина в различных световых условиях / О.А. Шатских, Е.М. Лузикова, В.Е. Сергеева // Современные проблемы науки и образования. 2015. \mathbb{N} 5. С. 40.
- 128. Шурин С.П. Некоторые аспекты изучения функционального строения тучных клеток / С.П. Шурин, С.В. Мелешин, Ю.А. Григорьев // Соединительная ткань в норме и патологии. Новосибирск: Наука, 1968. С. 138–144.
- 129. Эккерт Р. Физиология животных: механизм и адаптация: пер. с англ.: в 2 т. / Р. Эккерт, Д. Рэнделл, Д.Ж. Огастин. Т. 1. М.: Мир, 1991.-424 с.
- 130. Юрина Н.А. Морфофункциональная гетерогенность и взаимодействие клеток соединительной ткани / Н.А. Юрина, А.И. Радостина. М.: Изд-во РУДН, 1990. 48 с.
- 131. Юрина Н.А. Действие кортикоидов на аргирофильные премедуллярные клетки тимуса / Н.А. Юрина, А.Я. Тамахина // Бюл. эксперимент. биол. и мед. 1995. Т. 10. С. 3–8.
- 132. Юшков Б.Г. Клетки иммунной системы и регуляция регенерации / Б.Г. Юшков // Бюл. сибир. мед. -2017. Т. 16, № 4. С. 94–105. URL: https://doi.org/10.20538/1682-0363-2017-4-94-105
- 133. Яглов В.В. Актуальные проблемы биологии диффузной эндокринной системы / В.В. Яглов // Архив анатомии. Т. 96, № 1. С. 14–25.
- 134. Яглов В.В. Биология диффузной эндокринной системы: курс лекций / В.В. Яглов. М.: Изд-во Моск. вет. акад., 1993. 36 с.
- 135. Яглова Н.В. Тучные клетки и врожденный иммунитет / Н.В. Яглова / Иммунология. 2009. № 2. С. 139–143.
- 136. Ярилин А.А. Структуры тимуса и дифференцировка Т-лимфоцитов / А.А. Ярилин, В.Г. Пинчук, Ю.А. Гриневич. Киев: Здоровье, 1991. 132 с.
- 137. Ярилин А.А. Цитокины в тимусе. Выработка и рецепция цитокинов / А.А. Ярилин // Цитокины и воспаление. -2003. Т. 2, № 1. С. 3-13.
- 138. Ястребова С.А. Влияние адренокортикотропного, соматотропного гормонов и Т-активина на изменение аминосодержащих структур тимуса / С.А. Ястребова, Е.М. Наумова, И.В. Спирин // Аллергология и иммунология. 2003. Т. 4, № 2. С. 73—74.

- 139. Ястребова С.А. Механизмы гидрокортизоновой иммуномодуляции биоаминной клеточной системы тимуса / С.А. Ястребова, В.Е. Сергеева. – Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2000. – 83 с.
- 140. Ястребова С.А. Реакция СD 68-позитивных клеток селезёнки и тимуса на введение иммуномодуляторов / С.А. Ястребова, С.В. Илларионова, Н.А. Зайцева, В.Е. Сергеева // Междунар. журнал приклад. и фундамент. исслед. -2016. -№ 4. C. 589–593.
- 141. Ястребова С.А. Морфофункциональная характеристика серотонинсодержащих структур тимуса при введении хорионического гонадотропина / С.А. Ястребова, Л.Р. Ялалетдинова, В.С. Гордова, В.Е. Сергеева // Соврем. проблемы науки и образования. 2018. № 5.
- 142. Ялалетдинова Л.Р. Содержание нейромедиаторных биогенных аминов в тучных клетках тимуса при длительном введении хорионического гонадотропина небеременным крысам лабораторных мышей / Л.Р. Ялалетдинова, В.С. Гордова, В.Е. Сергеева // Перинатальная медицина: настоящее и будущее: сб. материалов межрегион. науч.-практ. конф. по актуальным вопросам перинат. мед. и репродукт. здоровья населения / МЗ ЧР; ФГБОУ ВО «ЧГУ им. И.Н. Ульянова». Чебоксары, 2016. С. 88–90.
- 143. Ялалетдинова Л.Р. Морфологическая характеристика тимуса небеременных мышей при введении хорионического гонадотропина / Л.Р. Ялалетдинова, В.С. Гордова, С.А. Ястребова, В.Е. Сергеева // Acta medica Eurasica. -2016. -№ 3. C. 59–65. URL: http://acta-medica-eurasica.ru/single/2016/3/10/
- 144. Ярилин А.А. Цитокины в тимусе. Рецепция и выработка цитокинов / А.А. Ярилин // Цитокины и воспаление. -2003. Т. 2, № 1. С. 3-13.
- 145. Abraham S.N. Mast cell-orchestrated immunity to pathogens / S.N. Abraham, A.L. St. John // Nat. Rev. Immunol. 2010. Vol. 10 (6). P. 440–52.
- 146. Acuña-Castroviejo D. Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions / D. Acuña-Castroviejo, H. Yu, J. Zhang, Q. Ji et al. // Cell Mol Life Sci. − 2014. − Vol. 71, № 16. − P. 2997–3025. − doi: 10.1007/s00018-014-1579-2. Epub 2014 Feb 20.
- 147. Adamczyk-Sowa M. Melatonin Acts as Antioxidant and Improves Sleep in MS Patients / M. Adamczyk-Sowa, K. Pierzchala, P. Sowa et al. // Neurochemical research. 2014. Vol. 39, № 8. P. 1585–1593.
- 148. Ader R. Interactions between the brain and the immune system / R. Ader, D. Felten, N. Cohen // Annu. Ret. Pharmacol. Toxicol. $-1990. N_{\odot} 30. P. 561-602.$

- 149. Amsen D. Thymocyte selection: not by TCR alone / D. Amsen, A.M. Kruisbeek // Immunol. Rev. 1998. № 165. P. 209–229.
- 150. Anderson G. Cellular interactions in thymocyte development / G. Anderson, N.C. Moore, J.J. Owen // Annual Review of Immunology. 1996. Vol. 14. P. 73–99.
- 151. Agbaria S. Epigenetic modification in 4T1 mouse breast cancer model by artificial light at night and melatonin the role of DNA-methyltransferase / S. Agbaria, A. Haim, F. Fares, A.E. Zubidat // Chronobiol Int. 2019. Vol. 36, № 5. P. 629–643. doi: 10.1080/07420528.2019.1574265. Epub 2019 Feb 12.
- 152. Arias J. Effect of melatonin on lymphocyte proliferation and production of interleukin-2 (IL-2) and interleukin-1 beta (IL-1 beta) in mice splenocytes / J. Arias, E. Melean, N. Valero et al. // Investigación clínica-Invest Clin. -2003. N = 44(1). P. 41-50.
- 153. Arushanian É.B. Universal therapeutic properties of melatonin / É.B. Arushanian // Klin Med (Mosk). 2013. Vol. 91, № 2. P. 4–8.
- 154. Arushanian E.B. Different shifts in the plasma corticosterone content depending on the dose and administration route of melatonin / E.B. Arushanian, K.S. El'bek'ian // Eksp. Klin. Farmakol. − 2013. − Vol. 76, № 9. − P. 32–37.
- 155. Arushanian E.B. Pineal hormone melatonin is an universal adaptogenic agent / E.B. Arushanian, E.V. Beĭer // Usp Fiziol Nauk. 2012. Vol. 43, № 3. P. 82–100.
- 156. Arushanyan E.B. Immunological properties pineal melatonin / E.B. Arushanyan, E.V. Beier // Experimental and clinical farmacologia. 2002. Vol. 65, № 5. P. 73–80.
- 157. Arola J. Protein kinase C signal transduction pathway in ACTH-induced growth ef-fect of rat adrenocortical cells in primary culture / J. Arola, P. Heikkila, R. Voutilainen, A. Kahri // J. Endocrinol. 1994. Vol. 141, № 2. P. 285–293.
- 158. Arya S. The Thymus / S. Arya, E. Gilbert, R. Hong, B. Bloodworth // Endocrine pathology, general and surgical. 1982. N.Y. P. 767–833.
- 159. Akpinar Z. The association of nocturnal serum melatonin levels with major depression in patients with acute multiple sclerosis / Z. Akpinar, S. Tokgöz, H. Gökbel et al. // Psychiatry Res. − 2008. − Vol. 161, № 2. − P. 253–257. − doi: 10.1016/j.psychres.2007.11.022. Epub 2008 Oct 10.
- 160. Baeza I. Improvement of leucocyte functions in ovariectomised aged rats after treatment with growth hormone, melatonin, oestrogens or phyto-oestrogens / I. Baeza, C. Alvarado, P. Alvarez et al. // J Reprod Immunol. 2009. Vol. 80, № 1–2. P. 70–79.

- 161. Barbanel G. Complex catechol-aminergic modulation of the stimulatory effect of interleukin-1 beta on the corticotropic axis / G. Barbanel, S. Gaillet, M. Mekaouche et al. // Brain-Res. − 1993. − Vol. 626, № 2. − P. 31–36.
- 162. Barul C. Night-Shift Work and Risk of Prostate Cancer: Results From a Canadian Case-Control Study, the Prostate Cancer and Environment Study / C. Barul, H. Richard, M.E. Parent // Am J Epidemiol. 2019. Vol. 188, № 10. P. 1801–1811. doi: 10.1093/aje/kwz167.
- 163. Bahna S.G. Regional upregulation of hippocampal melatonin MT2 receptors by valproic acid: therapeutic implications forAlzheimer's disease / S.G. Bahna, A. Sathiyapalan, J.A. Foster, L.P. Niles // Neuroscience letters. 2014. Vol. 576 P. 84–87. URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24909617 https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.05.056
- 164. Bazzani C. Dopamine D1 receptors are involved in the ACTH-induced reversal of hemorrhagic shock / C. Bazzani, M.G. Nardi, F. Ferrante et al. // Eur. J Pharmacol. 1994. Vol. 253, № 3. P. 303–306.
- 165. Balzer I. Melatonin in algae and higher plants possible new roles as a phytohormone and antioxidant / I. Balzer, R. Hardeland // Botanica Acta. 1996. Vol. 109. P. 180–183.
- 166. Barjavel M.J. Differential Expression of the Melatonin Receptor in Human Monocytes1 / M.J. Barjavel, Z. Mamdouh, N. Raghbate, O. Bakouche // The Journal of Immunology. 1998. Vol. 160. P. 1191–1197.
- 167. Bednarik J.A. Differential regional hemodynamic effects of corticotropin in conscious sheep / J.A. Bednarik, C.N. May // Hypertension. 1994. Vol. 24, № 1. P. 49–55.
- 168. Berk L. Randomized phase II trial of high-dose melatonin and radiation therapy for RPA class 2 patients with brain metastases (RTOG 0119) / L. Berk, B. Berkey, T. Rich // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. -2007. -Vol. 68, $Noldsymbol{Noldsymb$
- 169. Beskonakli E. Effect of pinealectomy on immune parameters in rats with Staphylococcus aureus infection / E. Beskonakli, S. Palaoglu, S. Aksaray et al. // Neurosurgical review. -2001. Vol. 24, N0 1. P. 26–30.
- 170. Bednarik J.A. Differential regional hemodynamic effects of corticotropin in conscious sheep / J.A. Bednarik, C.N. May // Hypertension. 1994. Vol. 24, № 1. P. 49–55.
- 171. Blalock I.E. A molecular basis of bi-directional communication between the immune and neuro endocrine systems / I.E. Blalock // Phisiol Rew. -1989. Vol. 69, Nolecup 1. P. 1-32.

- 172. Blanco J. Distribution of histamine in 7 brain regions in different species and 8 trains of mammals / J. Blanco, M. Blanco // Experientia. 1973. Vol. 29, № 7. P. 791.
- 173. Bozzoni N. Acromegaly and thymic hyperplasia: a case report / N. Bozzoni // J. Endocrinol Jnvest. 1990. Vol. 13, № 11. P. 931–935.
- 174. Calvo J.R. Immunomodulatory role of melatonin: specific binding sites in human and rodent lymphoid cells / J.R. Calvo, M. Raffi-El-Indrissi, D. Pozo, J.M. Guerrero // Journal of Pineal research. 1995. Vol. 18. P. 119–126.
- 175. Calvo J.R. The role of melatonin in the cells of the innate immunity: a review / J.R. Calvo, C. Gonzales-Yanes, M.D. Maldonado // Journal of Pineal research. -2013. Vol. 55, No. 2. P. 103–120.
- 176. Cameron L. Endothelin-1 release from the isolated perfused rat adrenal gland is elevated acutely in response to increasing flow rates and ACTH1-24 / L. Cameron, S. Kapas, J.P. Hinson // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1994. Vol. 202, N_2 2. P. 873–879.
- 177. Cardinali D.P. Melatonin effects on bone: experimental facts and clinical perspectives / D.P. Cardinali, M.G. Ladizesky, V. Boggio // Journal of Pineal Research. 2003. Vol. 34. P. 81–87.
- 178. Carrillo-Vico A. Melatonin: Buffering the Immune System / A. Carrillo-Vico, P.J. Lardone, N. Alvarez-Sanchez et al. // International Journal of Molecular Sciences. 2013. Vol. 14. P. 8638–8683.
- 179. Castrillon P. The effect of melatonin treatment on 24 hr variations in response to mitogens and lymphocyte subpopulations in rat submaxillary lymph nodes / P. Castrillon, A.I. Esquifino, A. Varas et al. // Journal of Neuroendocrinology. 2000. Vol. 12. P. 758–765.
- 180. Chantry D. Macrophage-Derived Chemorine is localisazed to thymic medullary epithe-lial cells and is a chemoattractant for CD 3+ CD4+ CD8+ from thymocytes / D. Chantry, P. Romagnani, C.J. Raport et al // Blood.—1999. Vol. 94, N_0 6. P. 1890—1898.
- 181. Cernysiov V. Expression of melatonin receptors in the cells of immune system / V. Cernysiov, R. Bozaite, M. Mauricas, I. Girkontaite // Immunology. $-2012.-Vol.\ 137,\ No.\ 1.-P.\ 296.$
- 182. Contuk G. Role of melatonin in reducing water avoidance stress-induced degeneration of the liver / G. Contuk, F. Ercan, S. Cetinel et al. // Dig Dis Sci. -2005. -Vol. 50, No. 4. -P. 738-744.
- 183. Claustrat B. Melatonin: Physiological effects in humans / B. Claustrat, J. Leston // Neurochirurgie. 2015. Vol. 61, № 2–3. P. 77–84.

- 184. Cross S.A. A study of methods available for cytochemical localization of histamine by fluorescence induced with o-phtaldehyde or acetal-dehyde / S.A. Cross, S.W. Ewen, F.W. Rost // Hystochem. J. 1971. Vol. 3, N_2 6. P. 471–476.
- 185. Currier N.L. Exogenous melatonin: quantitative enhancement in vivo of cells mediating non-specific immunity / N.L. Currier, L.Z. Sun, S.C. Miller // Journal of neuroimmunology. 2000. Vol. 104. P. 101–108.
- 186. Day H.E. Evidence that cholecystokinin receptors are not involved in the hypothalamic-pituitary-adrenal re-sponse to intraperitoneal administration of interleukin-1 β / H.E. Day, H. Akil // J. Neuroendocrinol. 1999. Vol. 11, N₂ 7. C. 561–568.
- 187. Dawicki W. New and emerging roles for mast cells in host defence / W. Dawicki, J.S. Marshall // Curr. Opin. Immunol. 2007. Vol. 19. P. 31–38.
- 188. Esquifino A.I. Circadian organization of the immune response: A role for melatonin / A.I. Esquifino, S.R. Pandi-Perumal, D.P. Cardinali // Clinical and Applied Immunology Reviews. 2004. Vol. 4. P. 423–433.
- 189. Falk B. Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde / B. Falk, N.A. Hillarp, G. Thieme, A. Torp // J. Histochem. Cytochem. 1962. Vol. 10. P. 348–354.
- 190. Ferstl R. Histamine regulation of innate and adaptive immunity / R. Ferstl, C.A. Akdis, L. O'Mahony // Front. Biosci. 2012. Vol. 17. P. 40–53.
- 191. Finocchiaro L.E. Melatonin biosynthesis and metabolism in peripheral blood mononuclear leucocytes / L.E. Finocchiaro, E. Nahmod, J.M. Launay // Biochen. J. 1991. Vol. 280. P. 727–732.
- 192. Galli S.J. Mast cells as "tunable" effector and immunoregulatory cells: recent advances / S.J. Galli, J. Kalesnikoff, M.A. Grimbaldeston // Annu Rev. Immunol. 2005. Vol. 23. P. 749–786.
- 193. Galli S.J. Immunomodulatory mast cells: negative, as well as positive, regulators of immunity / S.J. Galli, M.A. Grimbaldeston, M. Tsai // Nat Rev Immunol. -2008. Vol. 8. P. 478-486.
- 194. Galinowski A. Stress et panique. Aspects immunologiques / A. Galinowski // Encephale. 1993. Vol. 19, № 1. P. 147–151.
- 195. Garcia-Maurino S. Correlation between nuclear melatonin receptor expression and enhanced cytokine production in human lymphocytic and monocytic cell lines / S. Garcia-Maurino, D. Pozo, J.R. Calvo, J.M. Guerrero // Journal of Pineal Research. 2000. Vol. 29. P. 129–137.

- 196. Garcia-Maurino S. Melatonin enhances il-2, il-6, and ifn-gamma production by human circulating cd4+ cells: A possible nuclear receptor-mediated mechanism involving t helper type 1 lymphocytes and monocytes / S. Garcia-Maurino, M.G. Gonzalez-Haba, M. Rafii-El-Idrissi et al. // J. Immunol. − 1997. − № 159. − P. 574–581.
- 197. Garcia-Maurino S. Melatonin activates Th1 lymphocytes by increasing IL-12 production / S. Garcia-Maurino, D. Pozo, A. Carrillo-Vico et al. // Life Science. 1999. Vol. 65. P. 2143–2150.
- 198. Garcia-Maurino S. Correlation between nuclear melatonin receptor expression and enhanced cytokine production in human lymphocytic and monocytic cell lines / S. Garcia-Maurino, D. Pozo, J.R. Calvo, J.M. Guerrero // Journal of Pineal Research. 2000. Vol. 29. P. 129–137.
- 199. Cernysiov V. Expression of melatonin receptors in the cells of immune system / V. Cernysiov, R. Bozaite, M. Mauricas, I. Girkontaite // Immunology. 2012. Vol. 137, № 1. P. 296.
- 200. Genedani S. Differential modulation of invertebrate hemocyte motility by CRF, ACTH, and its fragments / S. Genedani, M. Bernardi, E. Ottaviani et al. // Peptides. 1994. Vol. 15, № 2. P. 203–206.
- 201. Csaba G. The role of the pineal-thymus system in the regulation of autoimmunity, aging and lifespan // Orv Hetil. -2016. Vol. 157, N 27. P. 1065-1070. doi: 10.1556/650.2016.30486.
- 202. Chen F. Effect of melatonin on monochromatic light-induced T-lymphocyte proliferation in the thymus of chickens / F. Chen, A. Reheman, J. Cao et al. // J Photochem Photobiol. 2016. № 161. P. 9–16. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.05.001.
- 203. Gobbo V. Pinealectomy inhibits interleukin-2 production and natural killer activity in mice / V. Gobbo, V. Libri, N. Villani et al. // International journal of immunopharmacology. 1989. Vol. 11, N_2 5. P. 567–573.
- 204. Goya R.G. Corticotropin-releasing (CRH) activity of thymic peptides on CRH-insensitive corticotropic tumor cells / R.G. Goya, M.G. Castro, M.J. Hannah et al. // Medicina B. Aires. 1993. Vol. 53, № 2. P. 108–112.
- 205. Green J.P. Effect of some drugs upon the histamine concentration of guinea pig brain / J.P. Green, E.W. Frickson // Arch Int Pharmacodyn. 1967. Vol. 166, N 1. P. 121–126.
- 206. Grinevich V. Effect of repeated lipopolisaccharide administration on tissue cytori-ne expression and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in rats / V. Grinevich, X.-M. Ma, J.P. Hermn et al. // J Neuroendocrinol. 2001. Vol. 13, № 8. C. 711–723.

- 207. Goswami S. CUVB irradiation severely induces systemic tissue injury by augmenting oxidative load in a tropical rodent: efficacy of melatonin as an antioxidant / S. Goswami, C.J. Haldar // Photochem Photobiol B. 2014. Vol. 141. P. 84–92.
- 208. Currier N.L. Exogenous melatonin: quantitative enhancement in vivo of cells mediating non-specific immunity / N.L. Currier, L.Z. Sun, S.C. Miller // J Neuroimmunol. 2000. Vol. 104, № 2. P. 101–108.
- 209. Guerrero J.M. Melatonin-immune system relationships / J.M. Guerrero, R.J. Reiter // Curr. Top. Med. Chem. 2002. Vol. 2, № 2. P. 167–179.
- 210. Guo Q. Developmental changes of melatonin receptor expression in the spleen of the chicken, Gallus domesticus [Электрон. ресурс] / Q. Guo, Y. Dong, J. Cao et al. // Acta Histochem. 2015. Vol. 117, № 6. P. 559–565. doi: 10.1016/j.acthis.2015.05.002. Epub 2015 May 27.
- 211. Guo Q. Physiological crosstalk between the AC/PKA and PLC/PKC pathways modulates melatonin-mediated, monochromatic-light-induced proliferation of T-lymphocytes in chickens / Q. Guo, Z. Wang, Y. Dong et al. // Cell Tissue Res. 2017. Vol. 369, № 3. P. 555–565. doi: 10.1007/s00441-017-2644-6. Epub 2017 Jun 28.
- 212. Gupta S. Nycthemeral variation in melatonin receptor expression in the lymphoid organs of a tropical seasonal breeder Funambulus pennanti. / S. Gupta, C. Haldar // J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol. 2014. Vol. 200, № 12. P. 1045–1055.
- 213. Gupta S. Photoperiodic regulation of nuclear melatonin receptor ROR α in lymphoid organs of a tropical rodent Funambulus pennanti: role in seasonal oxidative stress / S. Gupta, C. Haldar, R.J. Ahmad // Journal of Photochemistry and Photobiology B. 2015. Vol. 142. P. 141–153.
- 214. Guseinov S.H. New data on thymus pathophysiology in children Thymus / S.H. Guseinov, M.I. Alijev, T.H. Kurbanov // 1990. Vol. 16, N 1. P. 55–58.
- 215. Hadden J.W. Limphocyte blast transformation. I. Demonstration of adrenergic receptors in human peripheral lymphocytes / J.W. Hadden, E.M. Hadden, E. Middeletone // Cell. Immunol. 1970. Vol. 1. P. 583–595.
- 216. Hardeland R. Melatonin in aging and disease-multiple consequences of reduced secretion, options and Hardeland R Melatonin, the circadian multioscillator system and health: the need for detailed analyses of peripheral melatonin signaling / R. Hardeland, J.A. Madrid, D.X. Tan, R.J. Reiter // J Pineal Res. − 2012. − Vol. 52, № 2. − P. 139–166. − doi: 10.1111/j.1600-079X.2011.00934.x. Epub 2011 Oct 28.

- 217. Hardwick J.M. Multiple functions of BCL 2 family proteins / J.M. Hardwick, L. Soane // Cold Spring Harb Perspect Biol. 2013. Vol. 5, № 2. pii: a008722. doi:10.1101/cshperspect.a008722.
- 218. Hellstrand K. Enhancement of human natural killer cell cytotoxicity by serotonin: role of non-T/CD16+NK cells, accessory monocytes, and 5-HTIA receptors / K. Hellstrand, S. Hermodsson // Immunology. 1990. Vol. 127. P. 199.
- 219. Hoover D.B. Cholinergic modulation of the immune system presents new approaches for treating inflammation / D.B. Hoover // Pharmacol Ther. 2017. Vol. 179. P. 1–16. doi: 0.1016/j.pharmthera. 2017.05.002.Epub 2017 May 18.
- 220. Ishizuka M. Cyclic AMP effects on antibody formation and their similarities to hormone mediated events / M. Ishizuka, M. Gafni, W. Braun // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1970. Vol. 134, № 4. P. 963–967.
- 221. Jessop D.S. Effects of a chronic inflammatory stress on levels of pro-opiomelanocortin-derived peptides in the rat spleen and thymus / D.S Jessop, S.L. Lightman, H.S. Chowdrey // J. Neuroim-munol. − 1994. − Vol. 49, № 1. − P. 2197–2203.
- 222. Jimenez-Caliani A.J. Sex-dependent effect of melatonin on systemic erythematosus lupus developed in Mrl/Mpj-Faslpr mice: it ameliorates the disease course in females, whereas it exacerbates it in males / A.J. Jimenez-Caliani, S. Jimenez-Jorge, P. Molinero // Endocrinology. 2006. Vol. 147, N 4. P. 1717–1724.
- 223. Johnson R.W. Intracerebroventricular injection of corticotropin-releasing hormone in the pig: acute effects on behavior, adrenocortico secretion, and immune suppression / R.W. Johnson, E.H. Borell, L.L. Anderson // Endocrinology. $-1994.-Vol.\ 135, \ No.\ 2.-P.\ 642-648.$
- 224. Jung F.J. Melatonin in ivo prolongs cardiac allograft survival in rats / F.J. Jung, L. Yang, L. Harter // Journal of pineal research. -2004. Vol. 37, N 1. P. 36–41.
- 225. Jung K.H. Melatonin downregulates nuclear erythroid 2-related factor 2 and nuclear factor-kappaB during prevention of oxidative liver injury in a dimethylnitrosamine model / K.H. Jung, S.W. Hohg, H.M. Zheng et al. // J Pineal Res. 2009. Vol. 47, № 2. P. 173–183.
- 226. Iurato M.P. Thymic factors influence on behavior in rodents / M.P. Iurato, A. Chiarenza, N. Barbera et al. // Pharmacology, Biochemistry & Behavior. 1993. Vol. 44, № 3. P. 665–671.

- 227. Kahn R.S. Closarpin treatment and its effect on heuroendocine responses induced by the serotonin agonist, m-chlorphenylpiperazine / R.S. Kahn, M. Davidson et al. // Biol-Psychiatry. 1994. Vol. 36, № 12. P. 909–912.
- 228. Kaur C. Effects of melatonin on macrophages/microglia in post-natal rat brain / C. Kaur, E.A. Ling // Journal of pineal research. 1999. Vol. 26. P. 158–168.
- 229. Kelly P.N. The role of Bcl 2 and its pro-survival relatives in tumourigenesis and cancer therapy / P.N. Kelly, A. Strasser // Cell Death Differ. -2011. Vol. 18, N gain 9. P. 1414–1424. doi:10.1038/cdd.2011.17. Epub 2011 Mar 18.
- 230. Kendall M.D. Could ACTH be of prime importance in rapidly altering the thymocyte compostion in the thymus? / M.D. Kendall, H.D. Loxley, M.R. Dashwood et al. // Advances in Experimental Medicine & Biology. $-1994. N_{\odot} 355. P. 107-111.$
- 231. Kessler K. Shotgun lipidomics discovered diurnal regulation of lipid metabolism linked to insulin sensitivity in non-diabetic men / K. Kessler, M.J. Gerl, S. Hornemann et al. // J Clin Endocrinol Metab. − 2020. − Vol. 105. − № 5: dgz176. doi: 10.1210/clinem/dgz176.
- 232. Kmiecik T. T lymphocytes as a target of histamine action / T. Kmiecik, A. Otocka-Kmiecik, M. Gorska-Ciebiada, M. Ciebiada // Arch. Med. Sci. − 2012. − Vol. 8, № 1. − P. 154–161.
- 233. Konakchieva R. Selective effect of methoxyindoles on the lymphocyte proliferation and melatonin binding to activated human lymphoid cells / R. Konakchieva, S. Kyurkchiev, I. Kehayov et al. // J Neuroimmunol. 1995. Vol. 63, № 2. P. 125–132.
- 234. Khramtsova Y.S. Interrelation of mast cells with spermatogenesis in norm and in case of damage / Y.S. Khramtsova, O.S. Artashyan, B.G. Yushkov et al. // Bulletin of Siberian Medicine. 2019. Vol. 18, N 1. C. 237–246. URL: https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-1-237-246.
- 235. Krüger P.G. Morphologicae changes iduced eu ATP on rat mast ells and their relationship to histamine release / P.G. Krüger, B. Diamant, R. Dahlquist // Int. Arch. Allergy and Appl. Immunol. 1974. Vol. 46, N_2 5. P. 676–688.
- 236. Kumar A. Sesamol attenuates genotoxicity in bone marrow cells of whole-body γ -irradiated mice / A. Kumar, T.G. Selvan, A.M. Tripathi // Mutagenesis. 2015. doi:10.1093/mutage/gev026
- 237. Kumar G.L. Иммуногистохимические методы: рук-во / G.L. Kumar, L. Rudbeck: Dako / пер. с англ. под ред. Г.А. Франка, П.Г. Малькова. М., 2011. 224 с.

- 238. Kut J.L. Regulation of murine T-lymphocyte function by spleen cell-derived and exogenous serotonin / J.L. Kut, M.R. Young, J.W. Crayton et al. // Immunopharmacology and immunotoxicology. 1992. Vol. 14, N = 4. P. 783–796.
- 239. Lin G.L. Melatonin prolongs islet graft survival in diabetic NOD mice / G.L. Lin, S.H. Huang, Y.W. Chen et al. // Journal of pineal research. 2009. Vol. 47, № 3. P. 284–292.
- 240. Lin G-J. Modulation by Melatonin of the Pathogenesis of Inflammatory Autoimmune Diseases / G-J. Lin, S-H Huang, S-J Chen et al. // Int J Mol Sci. -2013. Vol. 14, N_{2} 6. P. 11742-11766.
- 241. Lissoni P. Amplification of eosinophilia by melatonin during the immunotherapy of cancer with interleukin-2 / P. Lissoni, A. Ardizzola, E. Tisi / J Biol Regul Homeost Agents. 1993. Vol. 7. P. 34–36.
- 242. Lissoni P. Circadian secretions of IL-2, IL-12, IL-6 and IL-10 in relation to the light/dark rhythm of the pineal hormone melatonin in healthy humans / P. Lissoni, F. Rovelli, F. Brivio et al. // Nature immunology. 1998. Vol. 16. P. 1–5.
- 243. Lissoni P. Is there a role for melatonin in supportive care? / P. Lissoni // Support Care Cancer. 2002. Vol. 10, № 2. P. 110–116.
- 244. Lissoni P. Five years survival in metastatic non-small cell lung cancer patients treated with chemotherapy alone or chemotherapy and melatonin: a randomized trial / P. Lissoni, M. Chilelli, S. Villa et al. // Journal of Pineal Research. 2003. Vol. 35. P. 12–15.
- 245. Litvinenko G.I. Effects of Melatonin on Morphological and Functional Parameters of the Pineal Gland and Organs of Immune System in Rats During Natural Light Cycle and Constant Illumination / G.I. Litvinenko, A.V. Shurlygina, O.B. Gritsyk et al. // Bull Exp Biol Med. 2015. Vol. 159(6). P. 732-5. doi: 10.1007/s10517-015-3061-z. Epub 2015 Oct 29.
- 246. Litvinenko G.I. Interstrain and seasonal differences in the response of blood and organs of the immune system to round-the-clock illumination of cba and c57/bl6 mice / G.I. Litvinenko, A.V. Shurlygina, O.B. Gritzyk et al. // Morfologiia. 2015. Vol. 147, № 2. P. 44–48.
- 247. Lifantseva N.V. Expression of components of the serotonergic system in the developing rat thymus / N.V. Lifantseva, T.O. Koneeva, E.E. Voronezhskaya, V.I. Melnikova // Dokl Biochem Biophys. − 2017. − Vol. 477, № 1. − P. 401–404. − doi: 10.1134/S1607672917060151. Epub 2018 Jan 3.
- 248. Loesser K.E. The peripheral cytoplasm of adrenocortical cells: zone-specific responses to ACTH / K.E. Loesser, L.D. Cain, S. Malamed // Anat-Rec. 1994. Vol. 239, № 1. P. 95–102.

- 249. Lopez-Gonzalez M.A. Specific binding of 2-[125I] melatonin by partially purified membranes of rat thymus / M.A. Lopez-Gonzalez, A. Martin-Cacao, R.J. Reiter et al. // Journal of Neuroimmunology. − 1993. − Vol. 45, № 1–2. − P. 121–126.
- 250. Luzikova E.M. The glucocorticoids effect on the nse-positive cells morhpotypes of the spleen / E.M. Luzikova, V.E. Sergeeva, O.N. Kirillova et al. // Fundamental research. -2011. N = 10 (part 1). -P. 103-106.
- 251. Madden K.S. Beta-adrenoceptor blockade alters thymocyte differentiation in aged mice / K.S. Madden, D.L. Felten // Cell Mol Biol. 2001. Vol. 47, № 1. P. 189–196.
- 252. Маеs М. Ультрачувствительное исследование депрессионной активности АСТН 1-39 / М. Maes, Н. Meltzer, Р. Blockx et al. // Neuro-psychobiology. 1994. Vol. 29, № 4. Р. 168–173.
- 253. Maestroni G.J. Colony-stimulating activity and hematopoietic rescue from cancer chemotherapy compounds are induced by melatonin via endogenous interleukin 4 / G.J. Maestroni, A. Conti, P. Lissoni // Cancer Research. 1994. Vol. 54. P. 4740–4743.
- 254. Maestroni G.J. Hematopoietic rescue via T-cell dependent, endogenous granulocyte-macrophage colony-stimulating factor induced by the pineal neurohormone melatonin in tumor-bearing mice / G.J. Maestroni, V. Covacci, A. Conti // Cancer Research. 1994. Vol. 54. P. 2429—2432.
- 255. Maestroni G.J. T-helper-2 lymphocytes as a peripheral target of melatonin / G.J. Maestroni // Journal of Pineal research. 1995. Vol. 18. P. 84.
- 256. Maestroni G.J. Melatonin and the immune-hematopoietic system therapeutic and adverse pharmacological correlates / G.J. Maestroni, A. Conti // Neuroimmunomodulation. 1996. Vol. 3. P. 325–332.
- 257. Maestroni G.J. The photoperiod transducer melatonin and the immune hematopoietic system / G.J. Maestroni // Journal of photochemistry and photobiology. B. − 1998. − Vol. 43, № 3. − P. 186–192.
- 258. Maestroni G.J. The immunotherapeutic potential of melatonin / G.J. Maestroni // Expert Opinion on Investigational Drugs. 2001. Vol. 10. P. 467–476.
- 259. Maiewska M. Influence of melatonin and its precursor L-tryptophan on Th1 dependent contact hypersensitivity / M. Maiewska, K. Zaiac, M. Zemelka, M. Szczepanik // Journal of physiology and pharmacology. − 2007. Vol. 58, № 6. P. 125–132.

- 260. Maldonado M.D. Evidence of melatonin synthesis and release by mast cells. Possible modulatory role in inflammation / M.D. Maldonado, M. Mora Santos, L. Naji et al. // Pharmacol. Res. 2010. Vol. 62, № 3. P. 282–287.
- 261. Maldonado M.D. Possible Involvement of the Inhibition of NF-κB Factor in Anti-Inflammatory Actions That Melatonin Exerts on Mast Cells. / M.D. Maldonado, H. García-Moreno, C. González-Yanes, J.R. Calvo // J Cell Biochem. 2016. № 117(8). P. 1926-33. doi: 10.1002/jcb.25491. Epub 2016 Feb 3.
- 262. Mandel T. Epithelial cells and lymphopoiesis in the cortex of guinea-pig thymus / T. Mandel // Austral I. Exptl. Med. Sci. 1969. Vol. 47. P. 153–155.
- 263. Mancio J. Does the association of prostate cancer with night-shift work differ according to rotating vs. fixed / J. Mancio, C. Leal, M. Ferreira et al. // Prostate Cancer Prostatic Dis. − 2018. − Vol. 21, № 3. − P. 337–344. − doi: 10.1038/s41391-018-0040-2. Epub 2018 Apr 27.
- 264. Marcelino da Silva E.Z. Mast Cell Function. A New Vision of an Old Cell / E.Z. Marcelino da Silva, M.C. Jamur, C. Oliver // J. Histochem. Cytochem. 2014. Vol. 62, № 10. P. 698–738.
- 265. Marinova T.T. Epithelial framework reorganization during human thymus involution / T.T. Marinova // Gerontology. 2005. Vol. 51, № 1. P. 14–18.
- 266. Mecheri S. New insights into the immunoregulatory functions of mast cells / S. Mecheri // Rev. fr. allergol. et immunol. clin. -2002. Vol. 42, N 1. P. 6-10.
- 267. Melik-Parsadaniantz S. Human interleukin 1 beta: corticotropin releasing factor and ACTH release and gene expression in the male rat: in vivo and in vitro studies / S. Melik-Parsadaniantz, N. Levin et al. // J. Neurosci-Res. -1994. Vol. 37, N 6. P. 675–682.
- 268. Morrey K.M. Activation of human monocytes by the pineal hormone melatonin / K.M. Morrey, J.A. McLachlan, C.D. Serkin, O. Bakouche // Journal of Immunology. 1994. Vol. 153, P. 2671–2680.
- 269. Mountjoy K.G. ACTH induces up-regulation of ACTH receptor mRNA in mouse and human adrenocortical cell lines / K.G. Mountjoy, I.M. Bird, W.E. Rainey, R.D. Cone // Mol. Cell. Endocrinol. − 1994. − Vol. 99, № 1. − P. 17–20.
- 270. Nava M. Melatonin reduces renal interstitial inflammation and improves hypertension in spontaneously hypertensive rats / M. Nava, Y. Quiroz, N. Vaziri, B. Rodriquez-Iturbe // Am J Physiol Renal Physiol. 2003. Vol. 284, № 3. P. 447–454.

- 271. Oleshchuk O. Hepatoprotective Effect of Melatonin in Toxic Liver Injury in Rats / O. Oleshchuk, Y. Ivankiv, H. Falfushynska et al. // Medicina (Kaunas). 2019. Vol. 55, № 6. pii: E304. doi: 10.3390/medicina55060304.
- 272. O'Mahony L. Regulation of the immune response and inflammation by histamine and histamine receptors / L. O'Mahony, M. Akdis, C.A. Akdis // J. Allergy Clin. Immunol. 2011. Vol. 128. P. 1153–1162.
- 278. Ozkanlar S. Melatonin Modulates the Immune System Response and Inflammation in Diabetic Rats Experimentally-Induced by Alloxan / S. Ozkanlar, A. Kara, E. Sengul et al. // Horm Metab Res. 2015. Vol. 47. P. 1–8.
- 279. Pacini N. Action of melatonin on bone marrow depression induced by cyclophosphamide in acute toxicity phase / N. Pacini, F. Borziani // Neuro endocrinology letters. 2009. Vol. 30, № 5. P. 582–591.
- 280. Packard K.A. Effects of histamine on Th1/Th2 cytokine balance / K.A. Packard, M.M. Khan // International immunopharmacology. 2003. Vol. 3, № 7. P. 909–920.
- 281. Parker C.W. Cyclic nucleotides in the immune response // Cyclic 3-5-Nucleotides: Mechanisms of Action / C.W. Parker // Ed. H. Cramer, J. Schultz. London, 1977. P. 161–187.
- 282. Peng Z. An essential role for phospholipase D in the activation of protein kinase C and degranulation in mast cells / Z. Peng, M.A. Beaven // J Immunol. -2005. -V. 174, N29. -P. 5201–5208.
- 283. Pham T.T. Night-shift work, circadian and melatonin pathway related genes and their interaction on breast cancer risk: evidence from a case-control study in Korean women / T.T. Pham, E.S. Lee, S.Y. Kong et al. // Sci Rep. -2019. -No 9. doi: 10.1038/s41598-019-47480-2.
- 284. Provinciali M. Long-term melatonin supplementation does not recover the impairment of natural killer cell activity and lymphocyte proliferation in aging mice / M. Provinciali, S.G. Di, D. Bulian // Life Sci. 1997. Vol. 61. P. 857–864.
- 285. Ohsawa K. Microglia / macrophage-specific protein Iba1 binds to fimbrin and enhances its actin-binding activity / K. Ohsawa, Y. Imai, Y. Sasaki, S. Kohsaka // J. Neurochem. 2004. Vol. 88. P. 844–856.
- 286. Raghavendra V. Melatonin provides signal 3 to unprimed CD4⁺ T cells but failed to stimulate LPS primed B cells / V. Raghavendra, V. Singh, A.V. Shaji et al. // Clin Exp Immunol. 2001. Vol. 124, № 3. P. 414–422.
- 287. Raffi-El-Idrissi M. Specific binding of 2-(125J) iodmelatonin by rat splenacytes: characterization and its role of regulation of cyclic AMP production / M. Raffi-El-Idrissi, D. Pozo, J.R. Calvo // Journal of Neuroimmunology. 1995. Vol. 57. P. 171–178.

- 288. Rai S. Pineal control of immune status and hematological changes in blood and bone marrow of male squirrels (Funambulus pennanti) during their reproductively active phase / S. Rai, C. Haldar // Comparative biochemistry and physiology. Part C. Toxicology, Pharmacology. 2003. Vol. 136. P. 319–328.
- 289. Raza F.S. Pref-1, SF-1 and adrenocortical zonation: Pap. 8 th Conf. Adrenal Cortex, Or-ford, Quebec / F.S. Raza, I.R. Puddeefoot, G.P. Vinson // Endocr. Res. − 1998. − Vol. 24, № 3–4. − P. 977–981.
- 290. Reiter R.J. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress: a review / R.J. Reiter, D.X. Tan, C. Osuna, E. Gitto // Journal of Biomedical Science. 2000. Vol. 7. P. 444–458.
- 291. Ritter M. The human thymus microenvironments: in vivo identification of thymic nurse cells and other antigenically distinct subpopulations of epithelial cells / M. Ritter, C. Sauvage, S. Cotmore // Immunol. 1981. Vol. 44. P. 439–416.
- 292. Rothenberg M.E. The eosinophil / M.E. Rothenberg, S.P. Hogan // Annu Rev Immunol. 2006. Vol. 24. P. 147–174.
- 293. Saez M.C. Melatonin increases the survival time of animals with untreated mammary tumours: neuroendocrine stabilization / M.C. Saez, C. Barriga, J.J. Garcia // Mol. Cell. Biochem. 2005. Vol. 278. P. 15–20.
- 294. Sasaguri K. Stress-induced galectin-1 influences immune tolerance in the spleen and thymus by modulating CD45 immunoreactive lymphocytes / K. Sasaguri, K. Yamada, Y. Narimatsu et al. // J Physiol Sci. − 2017. − Vol. 67, № 4. − P. 489–496. − doi: 10.1007/s12576-016-0478-8. Epub 2016 Aug 29. 10
- 295. Schenk H. Histamine regulates murine primary dendritic cell functions / H. Schenk, D. Neumann, C. Kloth // Immunopharmacol Immunotoxicol. -2016. Vol. 38, N5. P. 379–384. doi: 10.1080/08923973.2016.1214144. Epub 2016.
- 296. Shaji A.V. Regulation of secretion of IL-4 and IgG1 isotype by melatonin-stimulated ovalbumin-specific T cells / A.V. Shaji, S.K. Kulkami, J.N. Agrewala // Clin Exp Immunology. − 1998. − Vol. 111, № 1. − P. 181–185.
- 297. Sharma S. PLoS One. Melatonin Reverses Fas, E2F-1 and Endoplasmic Reticulum Stress Mediated Apoptosis and Dysregulation of Autophagy Induced by the Herbicide Atrazine in Murine Splenocytes / S. Sharma, J. Sarkar, C. Haldar, S. Sinha // PLoS One. 2014. Sep 26; 9(9): e108602. doi: 10.1371/journal.pone.0108602. eCollection 2014.
- 298. Silberberg S. Effect of 3 day of ACTH or the pituitary-adrenal axis / S. Silberberg, J.W. Funder // Clinical Pharmacology & Physiology. 1994. Vol. 15, № 1. P. 15–20. doi: 10.1023/B:RUDO.0000029715.94825.9c

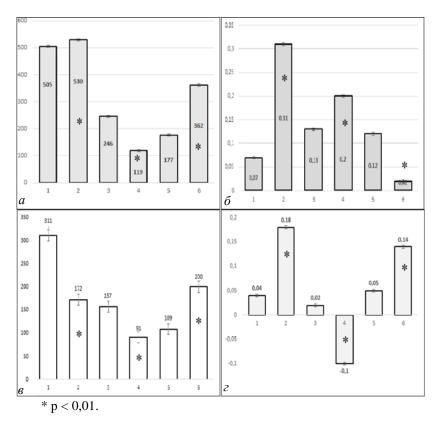
- 299. Smolinska S. Histamine and gut mucosal immune regulation / S. Smolinska, M. Jutel, R. Crameri, L. O'Mahony // Allergy. 2014. Vol. 69, № 3. P. 273–281. doi: 10.1111/all.12330
- 300. Smart B.A. Substance P and adreno-corticotropic hormone do not affect T-lymphocyte adhesion to vascular endothelium or surface expression of adhesion receptors / B.A. Smart, K.M. Rao, H.J. Cohen // Int. J. Immunopharmacol. − 1994. − Vol. 16, № 2. − P. 137–149. − doi: 10.1016/0192-0561(94)90070-1.
- 301. Sobecki M. The cell proliferation antigen Ki-67 organises heterochromatin / M. Sobecki, K. Mrouj, A. Camasses et al. // eLife. − 2016. № 5;e13722. − doi: 10.7554/eLife.13722.
- 302. Sokolovic D. Melatonin protects rat thymus against oxidative stress caused by exposure to microwaves and modulates proliferation/apoptosis of thymocytes / D. Sokolovic, B. Djordjevic, G. Kocic et al. // Gen Physiol Biophys. 2013. Vol. 32, № 1. P. 79–90. doi: 10.4149/gpb_2013002.
- 303. Soler J.E. Daytime Light Intensity Modulates Spatial Learning and Hippocampal Plasticity in Female Nile Grass Rats (Arvicanthis niloticus) / J.E. Soler, M. Stumpfig, Y.P. Tang et al. // Neuroscience. − 2019, № 15. − P. 175–183. − doi: 10.1016/j.neuroscience.2019.01.031. Epub 2019 Jan 26.
- 304. Straub R.H. Interaction of the endocrine system with inflammation: a function of energy and volume regulation / R.H. Straub // Arthritis Res Ther. -2014. Vol. 16, N 1. P. 203.
- 305. Tian Y.M. Rejuvenation of degenerative thymus by oral melatonin administration and the antagonistic action of melatonin against hydroxyl radical-induced apoptosis of cultured thymocytes in mice / Y.M. Tian, P.P. Li, X.F. Jiang et al. // Journal of Pineal Research. 2001. Vol. 31. P. 214–221.
- 306. Tian Y.M. Melatonin rejuvenates degenerated thymus and redresses peripheral immune functions in aged mice / Y.M. Tian, X.F. Jiang, Y.R. Dai // Immunology Letters. 2003. Vol. 88. P. 101–104.
- 307. Torres-Farfan C. MT_1 Melatonin receptor in the primate adrenal gland: inhibition of adrenocorticotropin-stimulated cortisol production by melatonin / C. Torres-Farfan, H.G. Richter, P. Rojas-García et al. // J Clin Endocrinol Metab. − 2003. − Vol. 88, № 1. − P. 450–458.
- 308. Truta-Feles K. Histamine modulates $\gamma\delta$ -T lymphocyte migration and cytotoxicity, via G_i and G_s protein-coupled signalling pathways / K. Truta-Feles, M. Lagadari, K. Lehmann et al. // Journal of Pharmacology. 2010. Vol. 161, N 6. P. 1291–1300.

- 309. Tsai M. Mast cells and immunoregulation/immunomodulation/M. Tsai, M. Grimbaldeston, S.J. Galli // Adv. Exp. Med. Biol. 2011. Vol. 716. P. 186–211.
- 310. Mishra U.K. Cytochemical identification of endocrine thymus of chicken in relation to aging / Uma Kanta Mishra // Vet. Res. Forum. -2013. Vol. 4, Noled 3. P. 137–143.
- 311. Vishwas D.K. Photoperiodic induced melatonin regulates immunity and expression pattern of melatonin receptor MT1 in spleen and bone marrow mononuclear cells of male golden hamster / D.K. Vishwas, C. Haldar // J. Photochem Photobiol B. − 2013. − Vol. 128, № 5 − P. 107–114. − doi: 10.1016/j.jphotobiol.2013.08.018. Epub 2013. Sep 11.
- 312. Wang H. Melatonin ameliorates carbon tetrachloride-induced hepatic fibrogenesis in rats via inhibition of oxidative stress / H. Wang, W. Wei, N.P. Wang et al. // Life Sci. 2005. Vol. 77, № 15. P. 1902–1915.
- 313. Wiegers G.J. Glucocorticoid receptor ex-pression in murine thymocytes / G.J. Wiegers, M. Knoflach et al.: 11th International Congress of Immunology, Stockholm 22-27 Iuly, 2001 // Scand. J. Immunol. 2001. Vol. 54, № 1. P. 111.
- 314. Withyachumnarnkul B. Interferon-gamma modulates melatonin production in rat pineal gland in organ culture / B. Withyachumnarnkul, K.O. Nonaka, C. Santana // J. Interferon Rev. 1990. Vol. 10. P. 403–411.
- 315. Yadav S.K. Experimentally induced stress, oxidative load and changes in immunity in a tropical wild bird, Perdicula asiatica: involvement of melatonin and glucocorticoid receptors / S.K. Yadav, C. Haldar // Zoology. -2014. Vol. 117, N 4. P. 261–268.
- 316. Yadav S.K. Variation in melatonin receptors (Mel(1a) and Mel(1b)) and androgen receptor (AR) expression in the spleen of a seasonally breeding bird, Perdicula asiatica / S.K. Yadav, C. Haldar, S.S. Singh // J. Reprod Immunol. − 2011. − Vol. 92, № 1–2. − P. 54–61. − doi: 10.1016/j.jri.2011.08.003. Epub 2011 Oct 2.
- 317. Young M.R. Stimulation of splenic T-lymphocyte function by endogenous serotonin and by low-dose exogenous serotonin / M.R. Young, J.L. Kut, M.P. Coogan et al. // Immunology. 1993. Vol. 80, № 3. P. 395–400.
- 318. Yu J. CD94 surface density identifies a functional intermediary between the CD56bright and CD56dim human NK-cell subsets / J. Yu, H.C. Mao, M. Wei // Blood. 2010. Vol. 115. P. 274–281.

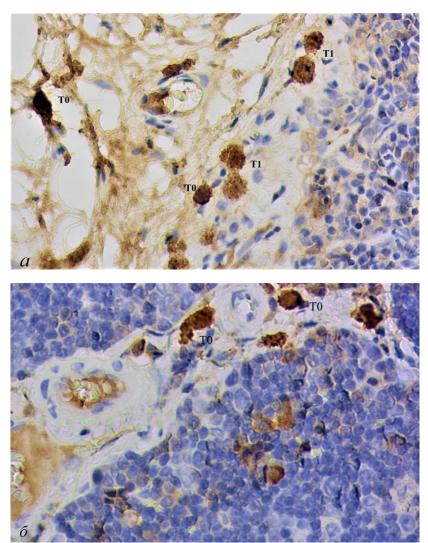
- 319. Yu H. Melatonin alleviates aluminium chloride-induced immunotoxicity by inhibiting oxidative stress and apoptosis associated with the activation of Nrf2 signaling pathway / H. Yu, J. Zhang, Q. Ji et al. // Ecotoxicol Environ Saf. 2019. Vol. 173. P. 131–141. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.01.095. Epub 2019 Feb 13.
- 320. Yuan L.-F. Rapamycin ameliorates experimental autoimmune uveoretinitis by inhibiting Th1/Th2/Th17 cells and upregulating CD4+CD25+ Foxp3 regulatory T cells / L.-F. Yuan, G.-D. Li, X.-J. Ren et al. // Int J Ophthalmol. -2015. Vol. 8, N 4. P. 659–664.
- 321. Zang L.Y. Scavenging of reactive oxygen species by melatonin / L.Y. Zang, G. Cosma, H. Cardner, V. Vallyathan // Biochimica et Biophysica Acta. 1998. Vol. 1425. P. 469–477.
- 322. Zhang X. Repeated Stress Suppresses Interferon-gamma Production by Murine Intestinal Intraepithelial Lymphocytes / X. Zhang, M. Okutsu, O. Kanemi et al. // Tohoku J. Exp Med. -2005. Vol. 206, Nomegap 3. P. 203–212.

приложения

Приложение 1

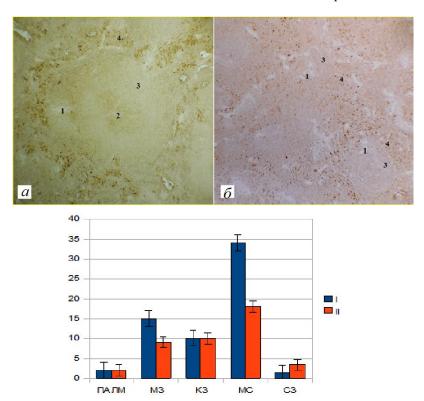


Изменение количества и оптической плотности серотонина лимфоцитов коркового (a, δ) и мозгового (a, ε) вещества долек тимуса крыс Wistar, получавших мелатонин в разных световых условиях: a, b по оси ординат — количество клеток, по оси абсцисс — номер экспериментальной группы; δ, ε по оси ординат — оптическая плотность, по оси абсцисс — номер экспериментальной группы. Подсчет проводился на участках препарата площадью 13,5 мм²



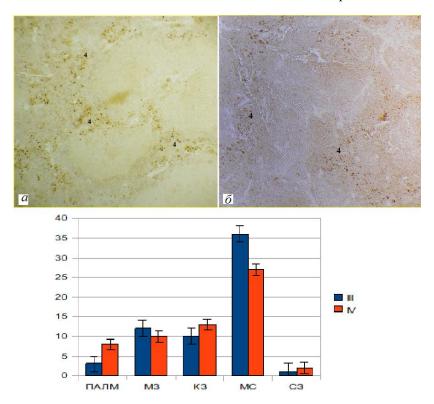
Тучные клетки в септах тимуса контрольных животных (a) и животных, получавших мелатонин в естественных световых условиях (δ): уменьшается количество T1-дегранулирующих форм тучных клеток

Приложение 3



Влияние мелатонина на МНС ІІ-позитивные клетки селезенки животных І (a) и ІІ (δ) экспериментальных групп: $1-\Pi A J M, 2-$ герминативный центр, 3- мантийная зона, 4- маргинальный синус

Приложение 4



Влияние мелатонина на МНС II-позитивные клетки селезенки животных III (a) и IV (δ) экспериментальных групп: 4 — маргинальный синус

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений	3
Введение	4
Глава 1. История вопроса	
световых условиях	11
Глава 2. Дизайн эксперимента	12
Глава 3. Влияние мелатонина на клетки диффузной эндокринной системы лимфоидных органов в разных световых условиях	21
условиях	
3.3. Морфофункциональная реакция клеток диффузной эндокринной системы селезёнки на поступление мелатонина в разных световых условиях	70
Глава 4. Реакция макрофагальной системы лимфоидных органов на введение мелатонина	84
Глава 5. Влияние мелатонина на процессы пролиферации и апопто- за в лимфоидных органах	107
5.1. Исследование процессов пролиферации и апоптоза лимфоцитов тимуса	107
тов селезёнки	116
Заключение	123
Список литературы	126
Приложения	155

Научное издание

ЛУЗИКОВА Елена Михайловна ШАТСКИХ Оксана Алексеевна СЕРГЕЕВА Валентина Ефремовна

АДАПТОГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ МЕЛАТОНИНА НА ЛИМФОИДНЫЕ ОРГАНЫ В УСЛОВИЯХ РАЗНЫХ СВЕТОВЫХ РЕЖИМОВ

Монография

Редактор Г.В. Плотникова Компьютерная верстка и правка Е.В. Ивановой

Согласно закону № 436-ФЗ от 29 декабря 2010 года данная продукция не подлежит маркировке

Подписано в печать 25.12.2019. Формат 60×84/16. Бумага газетная. Печать офсетная. Гарнитура Times. Усл. печ. л. 9,30. Уч.-изд. л. 9,20. Тираж 500 экз. Заказ № 1419.

> Издательство Чувашского университета Типография университета 428015 Чебоксары, Московский просп., 15



ЛУЗИКОВА Елена Михайловна кандидат биологических наук, доцент

кандидат биологических наук, доцент кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВО «ЧГУ им. И.Н. Ульянова»



ШАТСКИХ Оксана Алексеевна кандидат медицинских наук, врач

кандидат медицинских наук, врач клинической лаборатории ЦКБ РАН



СЕРГЕЕВА Валентина Ефремовна

доктор биологических наук, профессор кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «ЧГУ им. И.Н. Ульянова»

