

DOI 10.22363/2313-0245-2025-29-1-104-115

EDN GITPEA

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

ORIGINAL RESEARCH

Динамика морфометрических и оптических параметров лимфоцитов крыс под воздействием медно-цинковой колчеданной руды

А.Р. Никитина , К.Р. Зиякаева , А.Ф. Каюмова , В.Г. Шамратова 

Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Российская Федерация

 nikitina.albinar@gmail.com

Аннотация. *Актуальность.* Изучение изменений морфологических и оптических параметров популяции лимфоцитов крыс под воздействием медно-цинковой колчеданной руды позволяет оценить состояние иммунной системы организма. Так как отрицательные последствия контакта организма с солями тяжелых металлов, входящие в состав медно-цинковых колчеданных руд, могут иметь место у работников горнодобывающих предприятий. *Цель работы* заключалась в исследовании морфометрических и оптических параметров (площадь поверхности клетки, ядра, цитоплазмы, объем и оптическая плотность) лимфоцитов периферической крови крыс под воздействием медно-цинковой колчеданной руды. *Материалы и методы.* В работе с помощью компьютерной морфометрии в хроническом эксперименте изучены размерные показатели лимфоцитов и их структур, а также оптические свойства этих клеток у крыс, подвергнутых воздействию медно-цинковой колчеданной руды. Одновременно рассчитывали объем лимфоцитов по гистограммам распределения, представляемых гематологическим анализатором. В эксперименте использовали 70 нелинейных крыс-самцов трех-четырёхмесячного возраста (средняя масса $210,5 \pm 10,5$ г). В соответствии со сроками воздействия медно-цинковой колчеданной руды крысы были разделены на несколько групп. Показатели крови анализировали на гематологическом анализаторе Vet Exigo 19 (Швеция). Морфометрические параметры лимфоцитов определяли методом компьютерной морфометрии на мазках периферической крови, окрашенных по Романовскому – Гимзе, с помощью комплекса автоматической микроскопии МЕКОС-Ц2 софт (Россия), установленного в составе функций для анализа мазков на микроскопе AXIO Lab.A1 (ZEISS, Германия). *Результаты и обсуждение.* Анализ гистограмм распределения лимфоцитов по площади и объему продемонстрировал преобладание в популяции мелких и средних клеток. На 30-е сутки эксперимента наблюдалось возрастание объема, а на 45-е сутки — площади лимфоцитов. Происходящее во все сроки эксперимента увеличение площади ядра и снижение его оптической плотности было обусловлено, очевидно, превращением гетерохроматина в активный эухроматин, а уменьшение размера цитоплазмы — снижением ее метаболической активности. *Выводы.* Можно предположить, что выявленные перестройки были связаны с адаптивными процессами при действии на организм крыс руды.

© Никитина А.Р., Зиякаева К.Р., Каюмова А.Ф., Шамратова В.Г., 2025



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

Ключевые слова: лимфоциты, гистограммы, медно-цинковая колчеданная руда, оптическая плотность, крысы

Информация о финансировании. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Вклад авторов. Каюмова А.Ф., Шамратова В.Г., Зиякаева К.Р., Никитина А.Р. — концепция и дизайн исследования. Зиякаева К.Р., Никитина А.Р. — сбор и обработка данных, написание текста. Каюмова А.Ф., Шамратова В.Г. — редактирование. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое утверждение. Все эксперименты были выполнены в соответствии с Женевской конвенцией «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals» (Geneva, 1990), а также Хельсинской декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации о гуманном отношении к животным (редакция 2000 г.). Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет» Минздрава РФ, протокол № 5 от 13.09.2017.

Благодарности. Авторы выражают благодарность Павлову В.Н., член-корр. РАН, профессору, ректору ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» за помощь в проведении исследования.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 20.03.2024. Принята 22.04.2024.

Для цитирования: Никитина А.Р., Зиякаева К.Р., Каюмова А.Ф., Шамратова В.Г. Динамика морфометрических и оптических параметров лимфоцитов крыс под воздействием медно-цинковой колчеданной руды // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2025. Т. 29. № 1. С. 104—115. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-1-104-115. EDN GITPEA

Dynamics of morphometric and optical parameters of rat lymphocytes under the influence of copper-zinc pyrite ore

Albina R. Nikitina , Klara R. Ziyakaeva , Aliya F. Kayumova , Valentina G. Shamratova 

Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation
✉ nikitina.albinar@gmail.com

Abstract. Relevance. The study of changes in the morphological and optical parameters of the rat lymphocyte population under the influence of copper-zinc pyrite ore makes it possible to assess the state of the body's immune system. Since the negative effects of body contact with heavy metal salts, which are part of copper-zinc pyrite ores, may occur in mining workers. The aim of the work was to study the morphometric and optical parameters (cell surface square, nucleus, cytoplasm, volume and optical density) of peripheral blood lymphocytes of rats under the influence of copper-zinc pyrite ore. **Materials and Methods.** In this work, using computer morphometry in a chronic experiment, the dimensional parameters of lymphocytes and their structures, as well as the optical properties of these cells in rats exposed to copper-zinc pyrite ore, were studied. At the same time, the volume of lymphocytes was calculated from the histograms of distribution represented by a hematological analyzer. In the experiment, 70 inbreeding male rats of three to four months of age (average weight 210.5 ± 10.5 g) were used. In accordance with the timing of exposure to copper-zinc pyrite ore, the rats were divided into several groups. Blood counts were analyzed on a hematology

analyzer Vet Exigo 19 (Sweden). Morphometric parameters of lymphocytes were determined by computer morphometry on peripheral blood smears stained according to Romanovsky–Giemse using the MEKOS-C2 soft automatic microscopy complex (Russia) installed as part of the functions for smear analysis on the AXIO Lab.A1 microscope (ZEISS, Germany). *Results and Discussion.* The analysis of histograms of the distribution of lymphocytes by square and volume demonstrated the predominance of small and medium-sized cells in the population. On the 30th day of the experiment, an increase in volume was observed, and on the 45th day, the square of lymphocytes. The increase in the square of the nucleus and the decrease in its optical density occurring during all periods of the experiment was obviously due to the conversion of heterochromatin into active euchromatin, and the decrease in the size of the cytoplasm was due to a decrease in its metabolic activity. *Conclusions.* It can be assumed that the revealed rearrangements were associated with adaptive processes under the action of ore on the body of rats.

Keywords: lymphocytes, histograms, copper-zinc pyrite ore, optical density, rats

Funding. The study had no sponsorship.

Author contributions. Kayumova A.F., Shamratova V.G., Ziyakaeva K.R., Nikitina A.R. — the concept and design of the study. Ziyakaeva K.R., Nikitina A.R. — data collection and processing, text writing. Kayumova A.F., Shamratova V.G. — editing. All authors made a significant contribution to the development of the concept, research, and preparation of the manuscript, read and approved the final version before publication.

Conflict of interest statement. Authors declare no conflict of interest.

Ethics approval. All experiments were performed in accordance with the Geneva Convention «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals» (Geneva, 1990), and the World Medical Association Declaration of Helsinki on the Humane Treatment of Animals (2000 edition). The study was approved by the local Ethics Committee of the Bashkir State University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Protocol No. 5 dated 09/13/2017.

Acknowledgements. The authors express their gratitude to V.N. Pavlov, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor, Rector of the Bashkir State Medical University for assistance in conducting the study.

Consent for publication — not applicable.

Received 17.02.2024. Accepted 18.03.2024.

For citation. Nikitina AR, Ziyakaeva KR, Kayumova AF, Shamratova VG. Dynamics of morphometric and optical parameters of rat lymphocytes under the influence of copper-zinc pyrite ore. *RUDN Journal of Medicine*. 2025;29(1):104—115. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-1-104-115. EDN GITPEA

Введение

В ряде работ, проведенных в последнее десятилетие с помощью метода компьютерной морфометрии, установлено, что такие показатели лимфоцитов периферической крови, как диаметр, периметр и площадь, отражают не только морфологические особенности клеток, но и их функциональную активность [1]. Это позволило использовать диагностическую морфометрию для оценки иммунного статуса организма, в частности при остром миелоидном лейкозе и при апластиче-

ской анемии [2, 3]. Другим информативным морфофункциональным показателем клеток является их объем, для измерения которого используется кондуктометрический метод. Определение объема с помощью данного метода проводится в условиях, приближенных к естественному кровотоку, где клетки принимают свойственные их физиологическому состоянию форму.

Преимущество описанных методов состоит в возможности оценить состояние не только отдельных клеток, но и в целом популяции лимфоцитов,

представляющих собой совокупность клеточных форм, отличающихся друг от друга и по микро-структуре, и по функции. Так, установлено, что основную массу клеток у здоровых лиц составляют субпопуляции малых и средних лимфоцитов, включающих преимущественно Т-хелперы (95 % от общего числа циркулирующих клеток) и цитотоксические Т-лимфоциты (около 50 %) [4]. Незначительное количество клеток, обладающих крупными размерами, представлено незрелыми тимоцитами и натуральными киллерами [5]. Достоинство компьютерной морфометрии заключается в том, что, исследуя оптические свойства лимфоцитов, наряду с размерными показателями, можно получить информацию об особенностях химического состава клетки и состоянии клеточных структур.

Анализ динамики морфометрических и оптических параметров, объективно отражающей процессы перестройки клеточных звеньев иммунной системы, позволяет оценивать ее состояние при действии различных внешних и внутренних факторов [1]. При этом изменение диапазона варьирования размерных показателей лимфоцитов свидетельствует о нарушении иммунореактивности организма и развитии патологических процессов при воздействии на организм неблагоприятных факторов среды [1, 6]. В связи с этим большое прикладное значение имеет изучение морфометрических свойств лимфоцитов периферической крови лабораторных животных под воздействием солей тяжелых металлов, входящих в состав руд, с которыми контактируют работники горнодобывающих предприятий. Так, в исследовании Власовой Н.В. и Масягутовой Л.М. и др. было зафиксировано увеличение количества лейкоцитов и, в частности, лимфоцитов более чем в 2 раза у работников предприятия по добыче медно-цинковых колчеданных руд (МЦКР) [7]. В Башкортостане имеется 3 крупных месторождения, основным продуктом которых является МЦКР, в их составе обнаруживается около 60 вредных примесей, в том числе и соли тяжелых металлов, такие как мышьяк, сурьма, ртуть, фтор и другие [7].

Целью данной работы являлось исследование морфометрических и оптических параметров лимфоцитов (площадь поверхности клетки, ядра, цитоплазмы, объем и оптическая плотность) периферической крови крыс под воздействием медно-цинковой колчеданной руды.

Материалы и методы

Влияние МЦКР на гематологические параметры проведено на 70 белых нелинейных крысах-самцах в возрасте 3–4 мес., массой $210,5 \pm 10,5$ г. Продолжительность опыта составила 60 дней. В зависимости от срока интоксикации МЦКР было сформировано 6 групп: контрольная и 5 опытных. В подопытных группах в течение 10, 20, 30, 45 и 60 суток крысам перорально вводили водную суспензию руды (доза 600 мг/кг массы тела) [8]. Все эксперименты были выполнены в соответствии с Женевской конвенцией «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals» (Geneva, 1990), а также Хельсинкской декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации о гуманном отношении к животным (редакция 2000 г.). Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет» Минздрава РФ, протокол № 5 от 13.09.2017.

Для содержания животных использовали стандартные клетки ($n=6$) со свободным доступом к воде и пище при средней температуре воздуха в виварии 24 ± 2 °C в соответствии с правилами СП 2.2.1.3218 и с Директивой 2010/63/EU по охране животных, используемых в научных целях. Взятие периферической крови из хвостовой вены и эвтаназию животных путем декапитации проводили под эфирным наркозом [9].

Образец руды был предоставлен Учалинским горно-обоганительным комбинатом. Морфометрические параметры лимфоцитов определяли методом компьютерной морфометрии в мазках периферической крови, окрашенных по Романовскому – Гимзе, с помощью комплекса автоматической микроскопии МЕКОС-Ц2 софт (Россия), установленного в составе функций для анализа

мазков на микроскопе AXIO Lab.A1 (ZEISS, Германия). При просмотре мазков крови для подсчета лейкоцитарной формулы визуально определяли типы лейкоцитов, создавали базу их изображений и после сортировки осуществляли передачу данных в MS Excel. На основе подсчета в каждом образце площади двухсот клеток строили гистограммы распределения, которые позволили учитывать не только средние величины показателей, но и параметры распределения, а также соотношение долей клеток разного размера.

При анализе цитологических изображений изучали оптическую плотность цитоплазмы и ядра лимфоцитов. Для оценки параметров оптической плотности применяли распределение гистограммы яркости по объекту с помощью показателя удельной оптической плотности (УОП). УОП измерялась в трех спектральных диапазонах видеокамеры — синем (УОПс), зеленом (УОПз), красном (УОПк), окраска определялась цветом тех лучей, которые вещество поглощало. Суммарная оценка спектрального диапазона отражает степень функциональной активности клетки. Для определения интегральной оптической плотности цитоплазмы выполнялся расчет индекса оптической плотности (ИОП) и удельная суммарная оптической плотности (УСОП) — $(УСОП = УОПк + УОПз + УОПс)$, в усл. ед. Оптической плотности по каждой из трех компонентов спектра соответствовала своя область поглощения [10].

Количество и объем лимфоцитов крыс изучали на ветеринарном полуавтоматическом гематологическом анализаторе Vet Exigo 19 (Швеция). Средний объем лимфоцитов (MLV) и асимметрию распределения (As) лимфоцитов рассчитывали по гистограммам распределения, предоставляемых гематологическим анализатором [11]. На их основе составлялись интервальные вариационные ряды данных и рассчитывались средний объем лимфоцитов и As.

Полученные данные обрабатывались с использованием математического пакета Statistica 12 (StatSoft, США). Для оценки статистической значимости

различий выборок использовали непараметрические критерии Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса. Рассчитывали: медиану распределения клеток по объему (Me), интерквартильные размахи (Q1; Q3) и асимметрию распределения. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Оценку связей осуществляли с помощью непараметрического коэффициента корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение

Гистограммы распределения лимфоцитов крыс по площади, занимаемой клетками на стекле (SL), и объему (MLV) в исходном состоянии крыс на разных сроках эксперимента представлены на рис. 1.

Кривым распределения клеток по площади и объему в контроле и с 10-х суток эксперимента была свойственна островершинность (положительный эксцесс) и положительная As, проявляющаяся в сдвиге вершины распределения влево от ее центра вследствие наличия длинного «хвоста» в области больших величин показателей.

Исходя из сопоставления гистограмм SL и MLV отмечалось характерное совпадение этих кривых распределения. Во все сроки исследования максимум в гистограммах распределения по объему и площади приходился на 60 фл и мкм^2 , соответственно, за исключением 45-х суток. В контроле доля относительно мелких клеток (до 60 мкм^2 , фл) составляла 48 %, а средних (до 90 мкм^2 , фл) — 43 %, то есть в сумме на них приходилось более 90 % от всех циркулирующих клеток. Характер кривых распределения в первые сроки эксперимента изменился незначительно. На 30-е сутки, судя по гистограммам SL и MLV, происходил сдвиг вершины влево (As по площади в контроле составила $0,73 \pm 0,08$, на 30-е сутки — $2,99 \pm 0,10$; As по объему в контроле — $0,80 \pm 0,09$, на 30-е сутки — $0,85 \pm 0,08$ соответственно), обусловленный возрастанием в общей популяции доли более крупных клеток. Средняя площадь клеток статистически значимо не изменилась (Табл. 1), но при этом произошло достоверное возрастание объема клеток на 8 %.

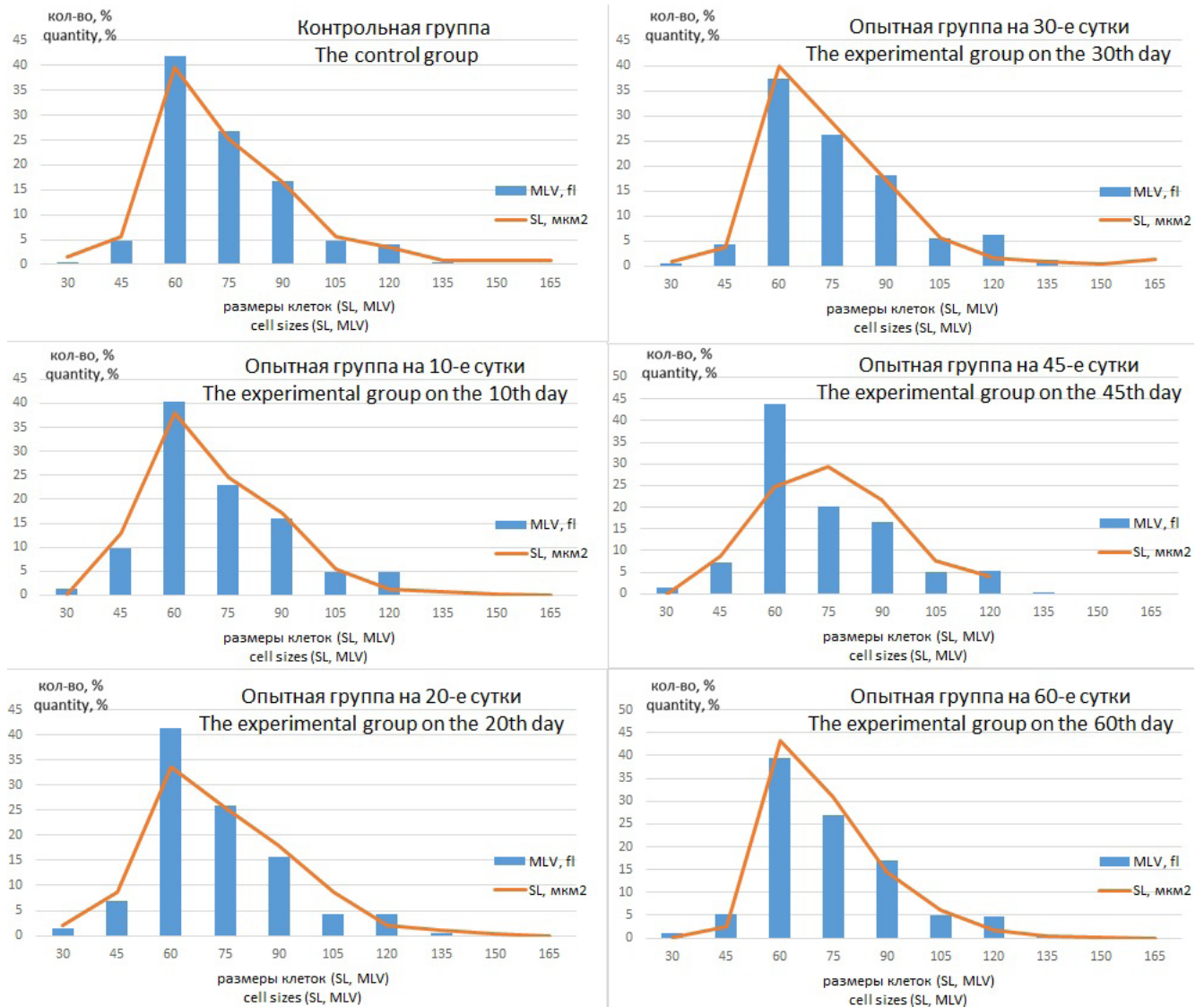


Рис. 1. Гистограммы распределения площади и объема лимфоцитов крыс, подвергнутых воздействию медно-цинковой колчеданной руды

Примечание: MLV — объем лимфоцитов, SL — площадь лимфоцитов.

Fig.1. Histograms of the distribution of the square and volume of lymphocytes of rats exposed to copper-zinc pyrite ore

Note: MLV — square of lymphocytes, SL — volume of lymphocytes.

Таблица 1

Показатели лимфоцитов крыс, подвергнутых воздействию медно-цинковой колчеданной руды, Ме (Q1; Q3)

Показатели	Контрольная группа	Опытная группа 10 дней	Опытная группа 20 дней	Опытная группа 30 дней	Опытная группа 45 дней	Опытная группа 60 дней
Количество лимфоцитов ($\times 10^9$ клеток/л)	10,45 (9,10; 12,50)	14,55 (10,85; 18,00)*	11,40 (10,50; 14,20)	12,20 (10,80; 14,60)	16,80 (9,80; 18,80)*	13,50 (10,20; 16,50) *
Средний объем лимфоцитов, фл	65 (55; 80)	60 (40; 80)*	65 (55; 70)	70 (65; 90)*	60 (60; 65)*■●	65,00 (65; 65) ●▲
Средняя площадь лимфоцитов, мкм ²	65,00 (52,00; 79,00)	64,00 (51,00; 76,00)	63,00 (49,00; 79,00)	63,00 (51,00; 78,00)	73,00 (60,00; 86,00) *△	62,00 (54,00; 74,00)
Средняя площадь цитоплазмы, мкм ²	20,00 (14,00; 27,00)	13,00 (9,00; 19,00)*	10,00 (5,00; 18,00)*△	14,00 (10,00; 25,00)*■	15,00 (10,00; 25,00)*■	13,00 (7,00; 20,00)*■
Средняя площадь ядра, мкм ²	44,00 (35,00; 53,00)	48,00 (37,00; 59,00)*	52,00 (40,00; 65,00)*△	47,00 (38,00; 55,00)*■	54,00 (44,00; 66,00)*△●	48,00 (42,00; 58,00)*
Ядерно-клеточное отношение	0,68 (0,62; 0,74)*	0,78 (0,69; 0,84) *	0,84 (0,74; 0,91)*△■	0,75 (0,64; 0,81)*■■	0,78 (0,68; 0,86)*■●	0,79 (0,69; 0,89) *■●
Ядерно-цитоплазматическое отношение	2,13 (1,62; 2,86)	3,54 (2,27; 5,44) *	5,12 (2,82; 10,33) *△	3,0 (1,81; 4,33) *△■	3,65 (2,08; 6,27) *■	3,72 (2,20; 7,80) *■●

Примечание: * — статистически значимое отличие показателя опытной группы по отношению к значению контрольной группы крыс ($p < 0,05$); △ — к 10-дневной опытной группы крыс ($p < 0,05$); ■ — к 20-дневной опытной группы крыс ($p < 0,05$); ● — к 30-дневной опытной группы крыс ($p < 0,05$); ▲ — к 45-дневной опытной группы крыс ($p < 0,05$).

Table 1

Lymphocyte counts of rats exposed to copper-zinc pyrite ore, Me (Q1; Q3)

Indicators	Control group	Experimental group 10 days	Experimental group 20 days	Experimental group 30 days	Experimental group 45 days	Experimental group 60 days
Number of lymphocytes ($\times 10^9$ cells/l)	10.45 (9.10; 12.50)	14.55 (10.85; 18.00)*	11.40 (10.50; 14.20)	12.20 (10.80; 14.60)	16.80 (9.80; 18.80)*	13.50 (10.20; 16.50) *
Average volume of lymphocytes, fl	65 (55; 80)	60 (40; 80)*	65 (55; 70)	70 (65; 90)*	60 (60; 65)*■●	65.00 (65; 65) ●▲
The average area of lymphocytes, mm ²	65.00 (52.00; 79.00)	64.00 (51.00; 76.00)	63.00 (49.00; 79.00)	63.00 (51.00; 78.00)	73.00 (60.00; 86.00) *△	62.00 (54.00; 74.00)
The average area of the cytoplasm, microns ²	20.00 (14.00; 27.00)	13.00 (9.00; 19.00)*	10.00 (5.00; 18.00)*△	14.00 (10.00; 25.00)*■	15.00 (10.00; 25.00)*■	13.00 (7.00; 20.00)*■
Average core area, mm ²	44.00 (35.00; 53.00)	48.00 (37.00; 59.00)*	52.00 (40.00; 65.00)*△	47.00 (38.00; 55.00)*■	54.00 (44.00; 66.00)*△●	48.00 (42.00; 58.00)*
The nuclear-cellular relationship	0.68 (0.62; 0.74)*	0.78 (0.69; 0.84) *	0.84 (0.74; 0.91)*△■	0.75 (0.64; 0.81)*■■	0.78 (0.68; 0.86)*■●	0.79 (0.69; 0.89) *■●
The nuclear-cytoplasmic relationship	2.13 (1.62; 2.86)	3.54 (2.27; 5.44) *	5.12 (2.82; 10.33) *△	3.0 (1.81; 4.33) *△■	3.65 (2.08; 6.27) *■	3.72 (2.20; 7.80) *■●

Note: * — statistically significant difference in the indicator of the experimental group in relation to the value of the control group of rats ($p < 0.05$); △ — to the value of the 10-day experimental group of rats ($p < 0.05$); ■ — to the value of the 20-day experimental group of rats ($p < 0.05$); ● — to the value of the 30-day experimental group of rats ($p < 0.05$); ▲ — to the value of the 45-day experimental group of rats ($p < 0.05$).

На 45-е сутки форма гистограммы распределения по объему, согласно средней величине и As ($0,77 \pm 0,06$), вернулась к исходному состоянию (в контроле), проявляясь в уменьшении «хвоста» распределения в области высоких значений. Но при этом было выявлено смещение вершины кривой SL в сторону больших величин (73 мкм^2) и симметричности гистограммы. Таким образом, вслед за изменением соотношения долей клеток по площади произошло увеличение среднего размера, при этом доля клеток среднего размера (75 и 90 мкм^2) составила более 50 % по сравнению с остальными сроками, в которых доля средних клеток не выходила за пределы 43 %. Следует отметить на этом сроке возросло количество лимфоцитов в циркуляции (Табл. 1).

Изучение внутриклеточных параметров — площадь ядра и цитоплазмы (Табл. 1) показало, что площадь, занимаемая ядром, достоверно увеличивалась по сравнению с контролем во все сроки эксперимента. Динамика площади цитоплазмы имела обратную тенденцию: начиная с 10-х суток произошло ее значимое уменьшение, и в последующие сроки средняя площадь цитоплазмы лимфоцитов оказалась достоверно ниже значений в контроле (на 10-е сутки уменьшилась на 35 %, на 20-е сутки — на 50 %, на 30-е сутки — на 30 %, на 45-е сутки — на 25 %, на 60-е сутки — на 35 % соответственно). При этом уменьшение площади цитоплазмы, как показывает сравнение ядерно-

цитоплазматического отношения, происходило на фоне увеличения доли, занимаемой ядром, при неизменной площади клетки. Исключение составляла картина на 45-е сутки, когда было зафиксировано максимальное значение общей поверхности клетки, обусловленное достоверным увеличением площади ядра по сравнению с контролем и предыдущими сроками исследования (на 10-е сутки увеличение произошло на 9 %, на 20-е сутки — на 18 %, на 30-е сутки — на 7 %, на 45-е сутки — на 23 %, на 60-е сутки — на 9 % соответственно).

Наибольшее статистически значимое изменение индекса поляризации, характеризующей степень эллиптичности объекта, распластанного на стекле, происходило на 30-е и 45-е сутки по сравнению с контролем (контроль — 0,09 (0,05; 0,15), на 30-е сутки — 0,14 (0,08; 0,23), на 45-е сутки — 0,14 (0,09; 0,22) при ($p < 0,05$)). В эти сроки клетки приобретали наименее симметричную форму с дальнейшим восстановлением до контрольных величин на 60-е сутки (0,09 (0,06; 0,14), при ($p < 0,05$)). Примечательно, что в эти сроки имели место различия между показателями площади и объема лимфоцитов (на 30-е сутки MLV составил 70 фл, SL — 63 мкм^2 ; на 45-е сутки MLV — 60 фл, SL — 73 мкм^2 ; на 60-е сутки MLV — 65 фл, SL — 62 мкм^2 соответственно).

Особый интерес представляет анализ параметров, характеризующих оптические свойства цитоплазмы и ядра (Табл. 2).

Таблица 2

Оптические показатели лимфоцитов крыс, подвергнутых воздействию медно-цинковой колчеданной руды, Me (Q1; Q3)

Показатели	Контрольная группа	Опытная группа 10 дней	Опытная группа 20 дней	Опытная группа 30 дней	Опытная группа 45 дней	Опытная группа 60 дней
Интегральная оптическая плотность цитоплазмы, усл.ед.	0,39 (0,27; 0,51)	0,18 (0,13; 0,29)*	0,13 (0,06; 0,21)*△	0,31 (0,17; 0,49)*△■	0,23 (0,13; 0,37) **■●	0,17 (0,08; 0,26) **●▲
Удельная суммарная оптическая плотность цитоплазмы, усл.ед.	1,20 (0,97; 1,48)	0,87* (0,75; 1,02)	0,82* (0,65; 1,03)	1,07*△■ (0,82; 1,63)	1,04*△■ (0,80; 1,30)	0,78*△●▲ (0,62; 0,98)
Удельная оптическая плотность ядра по красной компоненте, усл.ед.	1,28 (1,07; 1,52)	0,92* (0,77; 1,15)	0,74 *△ (0,60; 0,95)	1,05*△■ (0,83; 1,29)	0,71 *△● (0,63; 0,84)	0,74 *△● (0,59; 0,84)

Окончание табл. 2

Показатели	Контрольная группа	Опытная группа 10 дней	Опытная группа 20 дней	Опытная группа 30 дней	Опытная группа 45 дней	Опытная группа 60 дней
Удельная оптическая плотность ядра по зеленой компоненте, усл.ед	1,74 (1,34;2,10)	0,82* (0,69; 1,00)	0,59 *△ (0,50;0,76)	1,34 *△■ (0,94;1,90)	0,56*△● (0,48;0,67)	0,71 *△■●▲ (0,58;0,86)
Удельная оптическая плотность ядра по синей компоненте, усл.ед	0,47 (0,33;0,61)	0,16 * (0,13;0,21)	0,11 *△ (0,08;0,15)	0,38 *△■ (0,18;0,58)	0,10 *△● (0,07;0,14)	0,15*■●▲ (0,12;0,19)

Примечание: * — статистически значимое отличие показателя опытной группы по отношению к значению контрольной группы крыс ($p < 0,05$); △ — к 10-дневной опытной группы крыс ($p < 0,05$); ■ — к 20-дневной опытной группы крыс ($p < 0,05$); ● — к 30-дневной опытной группы крыс ($p < 0,05$); ▲ — к 45-дневной опытной группы крыс ($p < 0,05$).

Table 2

Optical parameters of lymphocytes of rats exposed to copper-zinc pyrite ore, Me (Q1; Q3)

Indicators	Control group	Experimental group 10 days	Experimental group 20 days	Experimental group 30 days	Experimental group 45 days	Experimental group 60 days
Integral optical density of the cytoplasm, conventional units	0.39 (0.27; 0.51)	0.18 (0.13; 0.29)*	0.13 (0.06; 0.21)*△	0.31 (0.17; 0.49)*△■	0.23 (0.13; 0.37) *■●	0.17 (0.08; 0.26) *●▲
The specific total optical density of the cytoplasm, conventional units	1.20 (0.97;1.48)	0.87* (0.75;1.02)	0.82* (0.65;1.03)	1.07*△■ (0.82;1.63)	1.04*△■ (0.80;1.30)	0.78*△●▲ (0.62;0.98)
Specific optical density of the core according to the red component, conventional units	1.28 (1.07;1.52)	0.92* (0.77; 1.15)	0.74 *△ (0.60;0.95)	1.05*△■ (0.83; 1.29)	0.71 *△● (0.63;0.84)	0.74 *△● (0.59;0.84)
Specific optical density of the core according to the green component, conventional units	1.74 (1.34;2.10)	0.82* (0.69; 1.00)	0.59 *△ (0.50;0.76)	1.34 *△■ (0.94;1.90)	0.56*△● (0.48;0.67)	0.71 *△■●▲ (0.58;0.86)
Specific optical density of the core according to the blue component, conventional units	0.47 (0.33;0.61)	0.16 * (0.13;0.21)	0.11 *△ (0.08;0.15)	0.38 *△■ (0.18;0.58)	0.10 *△● (0.07;0.14)	0.15*■●▲ (0.12;0.19)

Note: * — statistically significant difference in the indicator of the experimental group in relation to the value of the control group of rats ($p < 0.05$); △ — to the value of the 10-day experimental group of rats ($p < 0.05$); ■ — to the value of the 20-day experimental group of rats ($p < 0.05$); ● — to the value of the 30-day experimental group of rats ($p < 0.05$); ▲ — to the value of the 45-day experimental group of rats ($p < 0.05$).

Информативная ценность изучения оптических свойств заключается в том, что они отражают особенности протекания метаболизма в исследуемых клетках в норме и при патологических процессах. В результате исследования было выявлено снижение оптической плотности цитоплазмы во все сроки эксперимента по сравнению с контролем, свидетельствуя о снижении вязкости цитоплазмы (табл. 2). При этом установлена прямая корреляция суммарной оптической плотности цитоплазмы с ее площадью ($r = 0,57$ в контроле, $r = 0,56$ на 10-е сутки, $r = 0,52$ на 20-е сутки, $r = 0,69$ на 30-е сутки, $r = 0,59$ на 45-е сутки, $r = 0,77$ на 60-е сутки). Поскольку величина показателя преломления непосредственно зависит

от функционального состояния внутриклеточных структур, можно предположить, что наблюдаемые в ходе эксперимента уменьшение площади и оптической плотности цитоплазмы по сравнению с контролем обусловлено снижением ее функциональной активности под воздействием руды (на 10-е сутки площадь цитоплазмы уменьшилась на 35 % и удельная суммарная оптическая плотность цитоплазмы на 27,5 %; на 20-е сутки — на 50 % и 31,7 %; на 30-е сутки — на 30 % и 10,8 %; на 45-е сутки — на 25 % и 13,3 %; на 60-е сутки — на 35 % и 35 % соответственно по сравнению с контролем).

Во все сроки эксперимента обнаруженное нами увеличение размера ядра сочеталось со снижением

оптической плотности по всем спектральным диапазонам (Табл. 2), свидетельствуя о преобразовании внутриядерной структуры клетки.

Известно, что размеры и форма ядра определяются не столько количеством ДНК, сколько модификацией хроматина [12], при этом увеличение площади ядра обусловлено, главным образом, превращением гетерохроматина в эухроматин [13]. Учитывая, что переход гетерохроматина в более рыхлую форму эухроматина сопровождается повышением площади ядра и клетки, изменения оптических свойств ядра во все сроки исследования можно расценивать как отражение изменения плотности упаковки хроматина, то есть трансформации неактивного гетерохроматина в активный эухроматин. Соответственно, максимальная активность ядра приходилась на 45-е сутки, проявляясь в минимальной величине оптической плотности в наибольшем размере ядра и клетки в целом.

Проведенное исследование показало, что интоксикация организма крыс, возникающая при воздействии МЦКР, сопровождалась увеличением количества лимфоцитов, изменением их морфометрических и оптических параметров. Полученные данные соответствовали сведениям из литературных источников о том, что основную долю циркулирующих клеток составляют мелкие и средние лимфоциты [5]. Судя по форме гистограмм площади и объема клеток, на 30-е и 45-е сутки в популяции лимфоцитов происходило перераспределение в сторону увеличения доли более крупных клеток, сочетаясь на 45-е сутки с возрастанием их количества. Проанализировав морфометрические показатели, можно заключить, что значимое возрастание SL на 45-е сутки соответствовало наиболее выраженному увеличению размера ядра, при этом размер цитоплазмы значимо не отличался. Сопоставив этот факт с увеличением численности клеток в этот срок, можно допустить, что популяция лимфоцитов, поступающих в циркуляцию, пополнялась за счет клеток с увеличенным ядром. Согласно литературным источникам пополнение популяции клетками более крупного размера возможно за счет незрелых тимоцитов и естественных киллеров [4, 5, 14]. Аналогичные изменения состава популяции

лимфоцитов периферической крови под влиянием витамина А наблюдались у норок, у которых были выявлены большие гранулярные лимфоциты, относящиеся к естественным киллерам [15]. Внутрипопуляционная перестройка лимфоцитов и появление групп клеток с разной площадью и объемом, может свидетельствовать о развитии иммунной реакции организма на воздействие токсических веществ руды [1]. Уточнить информацию о характере наблюдаемых процессов позволило изучение внутриклеточных компонентов.

Динамичными и объективными показателями состояния клетки являются размер и оптическая плотность ядра [12]. Их динамика отражает не только модификацию хроматина, но и состояние цитоскелета, ядерной мембраны, осмолярность клетки [12, 16]. При активации клетки претерпевает конформационные превращения структурная упорядоченность хроматина, в результате которых изменяются его оптические свойства [17, 18]. В силу этого обнаруженное в эксперименте увеличение размера ядра, сочетающиеся со снижением его оптической плотности, может свидетельствовать об изменении под влиянием МЦКР степени конденсации хроматина и соответственно усилении матричной активности ДНК [12, 19].

Наряду с увеличением размера ядра под действием МЦКР руды происходило снижение оптической плотности и площади цитоплазмы. При этом выявилась положительная корреляция между этими показателями. Учитывая, что величина показателя преломления непосредственно зависит от концентрации химических компонентов внутриклеточного вещества и состояния клеточных органоидов, можно предположить, что при интоксикации рудой снижается функциональное состояние цитоплазматических структур и обменных процессов [20].

Выводы

Исходя из представлений о том, что морфометрические параметры объективно отражают функциональное состояние лимфоцитов, можно говорить о перестройке клеточных звеньев иммунной системы

под влиянием МЦКР. Выявленное увеличение размеров ядра и уменьшение его оптических свойств указывает на модификацию хроматина, а именно переход гетерохроматина в более рыхлую форму эухроматина, при этом оптическая плотность цитоплазмы и ее площадь в этот период уменьшается, что связано с ослаблением метаболической активности цитоплазмы. Следовательно, структурно-функциональные преобразования в популяции лимфоцитов, направленных на адаптацию организма к действию МЦКР, затрагивают ядерный аппарат, но не реализуются на уровне цитоплазматических процессов.

Библиографический список

1. Ватазин А.В., Василенко И.А., Валов А.Л., Метелин В.Б., Круглов Е.Е., Цалман А.А. Витальная компьютерная морфометрия лимфоцитов в диагностике острого отторжения почечного аллотрансплантата // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2009. Т. 11. № 4. С. 18—25.
2. Погорелов В.М., Дягилева О.А., Луговская С.А., Козинец Г.И. Принципы и возможности стандартизации морфотомохимической диагностики острых лейкозов // Клиническая лабораторная диагностика. 2006. № 7. С. 20—22.
3. Шишина Р.Н., Рахманова Д.Ф., Потапова С.Г., Мукова Л.А., Красников А.В., Погорелов В.М. Морфометрическая характеристика лимфоцитов при апластической анемии // Гематология и трансфузиология: Медицина. 2009. Т. 54. № 2. С. 19—22.
4. Yoon J., Jo Y., Kim Mh., Kim K., Lee S., Kang Sj., Park Y. Identification of non-activated lymphocytes using three-dimensional refractive index tomography and machine learning // Sci Rep. 2017. Vol.7. № 1. P. 6654. doi: 10.1038/s41598-017-06311y
5. Давыдкин И.Л., Фёдорова О.И., Захарова Н.О., Селезнёв А.В. Компьютерная морфометрия лимфоцитов периферической крови у больных пневмонией различного возраста // Влияние экологии на внутренние болезни. 2010. Т. 12. № 1. С. 1737—1741.
6. Ланичева А.Х., Семченко В.В., Сосновская Е.В., Шарафутдинова Л.А. Реорганизация лимфоцитарного профиля периферической крови у крыс в посттравматическом периоде // Медицинский вестник Башкортостана. 2023. Т. 18. № 3. С. 45—50.
7. Власова Н.В., Масыгутова Л.М., Аралбаев Х.Ф., Хайруллин Р.У., Иванова Р.Ш. Изменения гематологических показателей у работников горнодобывающей промышленности // Медицина труда и экология человека. 2020. Т. 3. № 23. С. 21—28. doi:10.24412/2411-3794-2020-10303
8. Ziyakaeva K.R., Kayumova A.F. Changes in erythron of experimental rats under influence of pyrite ore. Conference Series: Earth and Environmental Science. Conference proceedings. Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering Associations; 2019 nov 13—14; Krasnoyarsk, Russia. Krasnoyarsk: 2020. p. 182—183. doi:10.1088/1755—1315/421/5/052026
9. Зиякаева К.Р., Каюмова А.Ф., Шамратова В.Г. Дизрегуляторные сдвиги в системе красной крови при длительной интоксикации медно-цинковой колчеданной рудой (экспериментальное исследование) // Медицина труда и промышленной экологии. 2021. Т. 61. № 4. С. 224—230. doi:10.31089/1026-9428-2021-61-4-224-230
10. Бондарь Т.П., Ишкова Н.М., Эльканова А.Б. Изучение денситометрических характеристик эозинофилов периферической крови при заболеваниях инфекционно-аллергической природы // Наука. Инновации. Технологии. 2011. № 74. С. 5—13.
11. Аюпова А.Р., Зиякаева К.Р., Каюмова А.Ф., Шамратова В.Г., Самоходова О.В., Фазлыхметова М.Я. Взаимосвязи между количеством и параметрами распределения объемов лейкоцитов крыс при воздействии медно-цинковой колчеданной руды // Современные проблемы науки и образования. 2023. № 3. С. 60—65. doi:10.17513/srpo.32599
12. Арешидзе Д.А. Механизмы поддержания и изменений формы и размеров клеточного ядра (обзор) // Морфологические ведомости. 2022. № 3. С. 73—80. doi:10.20340/mv-mn.2022.30(3).670
13. Новодержкина Ю.К., Караштин В.В., Моруков Б.В. Морфометрические показатели лимфоцитов периферической крови в условиях 120-суточной антиортостатической гипокинезии // Клиническая лабораторная диагностика. 1996. № 1. С. 40—41.
14. Семенов В.Ф., Мирошниченко И.В., Столпникова В.Н., Левашова Т.В. Возрастной иммунодефицит и его коррекция. Руководство по геронтологии / под ред. В.Н. Шабалина. М.: Цитадель-трейд, 2005.
15. Башиникова И.В., Узенбаева Л.Б., Илюха В.А. Лейкоциты крови и морфометрические параметры лимфоцитов при различных дозах витаминов А и Е у американских норков (neovison vison) // Труды Карельского научного центра Российской академии наук. 2018. № 12. С. 125—132. doi:10.17076/eb906
16. Smetana K., Mikulenkova D., Karban J., Trněný M. RNA Concentration and Content in the Nucleoli and Cytoplasmic Rim in Differentiating Lymphocytes of Patients Suffering from B Chronic Lymphocytic Leukaemia — a Cytochemical Note // Folia Biol (Praha). 2022, Vol. 68. № 1. P. 40—44.
17. Гаспарян С.А., Попова О.С., Василенко И.А., Хрипунова А.А., Метелин В.Б. Оценка фенотипа интерфазных ядер лимфоцитов методом количественного фазового имиджинга (Qpi) у пациенток с эндометриодными кистами яичников // Альманах клинической медицины. 2017. Т. 45. № 2. С. 109—117. doi:10.18786/2072-0505-2017-45-2-109-117
18. Сустретов А.С., Богуш В.В., Гусева О.С., Ильясов П.В., Лимарева Л.В. Сравнение методов модуляционной интерференционной микроскопии, ДНК-спектрометрии, ДНК-цитометрии и проточной цитофлуориметрии при оценке индуцированной фитоагглютинином активности лимфоцитов крови человека // Альманах клинической медицины. 2021. Т. 49. № 6. С. 412—418. doi:10.18786/2072-0505-2021-49-054
19. Spagnol S.T., Armiger T.J., Dahl K.N. Mechanobiology of chromatin and the nuclear interior // Cell Mol Bioeng. 2016. № 2. P. 268—276. doi:10.1007/s12195-016-0444-9
20. Kim K., Guck J. The Relative Densities of Cytoplasm and Nuclear Compartments Are Robust against Strong Perturbation // Biophys J. 2020. Vol. 119. № 10. P. 1946—1957. doi: 10.1016/j.bpj.2020.08.044

References

1. Vatazin AV, Vasilenko IA, Valov AL, Metelin VB, Kруглов EE, Calman AYA. Vital computer morphometry of lymphocytes in

the diagnosis of acute renal allograft rejection. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2009;11(4):18—25. (In Russian).

2. Pogorelov VM, Dyagileva OA, Lugovskaya SA, Kozinec GI. Principles and possibilities of standardization of morphocytochemical diagnosis of acute leukemia. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2006;7:20—22. (In Russian).

3. SHishina R.N., Rahmanova D.F., Potapova S.G., Mukova L.A., Krasnikov A.V., Pogorelov V.M. Morphometric characteristics of lymphocytes in aplastic anemia. *Gematologiya i transfuziologiya: Medicina*. 2009;54(2):19—22. (In Russian).

4. Yoon J, Jo Y, Kim MH, Kim K, Lee S, Kang SJ, Park Y. Identification of non-activated lymphocytes using three-dimensional refractive index tomography and machine learning. *Sci Rep*. 2017;7(1):6654. doi: 10.1038/s41598-017-06311y

5. Davydkin IL, Fyodorova OI, Zaharova NO, Seleznyov AV. Computer morphometry of peripheral blood lymphocytes in patients with pneumonia of various ages. *Vliyanie ekologii na vnutrennie bolezni*. 2010. P. 1737—1741. (In Russian).

6. Lanicheva AH, Semchenko VV, Sosnovskaya EV, SHarafutdinova LA. Reorganization of the peripheral blood lymphocytic profile in rats in the posttraumatic period. *Meditsinskij vestnik Bashkortostana*. 2023;18(3):45—50. (In Russian).

7. Vlasova NV, Masyagutova LM, Aralbaev HF, Hajrullin RU, Ivanova RSH. Changes in hematological parameters in mining workers. *Medicina truda i ekologiya cheloveka*. 2020;3(23):21—28. doi: 10.24412/2411-3794-2020-10303. (In Russian).

8. Ziyakaeva KR, Kayumova AF. Changes in erythron of experimental rats under influence of pyrite ore. Conference Series: Earth and Environmental Science. Conference proceedings. Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering Associations; 2019 nov 13—14; Krasnoyarsk, Russia. Krasnoyarsk: 2020. p. 182—183. doi:10.1088/1755-1315/421/5/052026. (In Russian).

9. Ziyakaeva KR, Kayumova AF, SHamratova VG. Dysregulatory shifts in the red blood system during prolonged intoxication with copper-zinc pyrite ore (experimental study). *Medicina truda i promyshlennoj ekologii*. 2021;61(4):224—230. (In Russian). doi: 10.31089/1026-9428-2021-61-4-224-230

10. Bondar' TP, Ishkova NM, El'kanova AB. The study of the densitometric characteristics of peripheral blood eosinophils in diseases of an infectious and allergic nature. *Science. Innovation. Technologies*. 2011;74:5—13. (In Russian).

11. Ayupova AR, Ziyakaeva KR, Kayumova AF, SHamratova VG, Samohodova OV, Fazlyahmetova MYA. The relationship between the

number and parameters of the distribution of volumes of rat leukocytes under the influence of copper-zinc pyrite ore. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2023;3:60—65. (In Russian). doi: 10.17513/spno.32599

12. Areshidze DA. Mechanisms of maintenance and changes in the shape and size of the cell nucleus (review). *Morfologicheskie vedomosti*. 2022;3:73—80. (In Russian).

13. Novoderzhkina YUK, Karashtin VV, Morukov BV. Morphometric parameters of peripheral blood lymphocytes in conditions of 120-day antiorthostatic hypokinesia. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 1996;1:40—41. (In Russian).

14. Semenov VF, Miroshnichenko IV, Stolpnikova VN, Levashova TV. Age-related immunodeficiency and its correction. A Guide to Gerontology. SHabalina VN, editor. Moscow: Citadel'-trejd: 2005. (In Russian).

15. Baishnikova IV, Uzenbaeva LB, Ilyuha VA. Blood leukocytes and morphometric parameters of lymphocytes at different doses of vitamins A and E in American mink (neovison vison). *Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2018;(12):125—132. (In Russian). doi: 10.17076/eb906

16. Smetana K, Mikulenkova D, Karban J, Trněný M. RNA Concentration and Content in the Nucleoli and Cytoplasmic Rim in Differentiating Lymphocytes of Patients Suffering from B Chronic Lymphocytic Leukaemia — a Cytochemical Note. *Folia Biol (Praha)*. 2022;68(1):40—44.

17. Gasparyan SA, Popova OS, Vasilenko IA, Hripunova AA, Metelin VB. Assessment of the phenotype of interphase nuclei of lymphocytes by quantitative phase imaging (Qpi) in patients with ovarian endometrioid cysts. *Al'manah klinicheskoy mediciny*. 2017;45(2):109—117. (In Russian). doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-2-109-117

18. Sustretov AS, Bogush VV, Guseva OS, Il'yasov PV, Limareva LV. Comparison of methods of modulation interference microscopy, DNA spectrometry, DNA cytometry and flow cytometry in the assessment of phytohemagglutinin-induced activity of human blood lymphocytes. *Al'manah klinicheskoy mediciny*. 2021;49(6):412—418. (In Russian). doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-054

19. Spagnol ST, Armiger TJ, Dahl KN. Mechanobiology of chromatin and the nuclear interior. *Cell Mol Bioeng*. 2016;9(2):268—276. doi: 10.1007/s12195-016-0444-9.

20. Kim K, Guck J. The Relative Densities of Cytoplasm and Nuclear Compartments Are Robust against Strong Perturbation. *Biophys J*. 2020;119(10):1946—1957. doi: 10.1016/j.bpj.2020.08.044.

Ответственный за переписку: Никитина Альбина Рашитовна — ассистент кафедры нормальной физиологии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. *Российская Федерация, 450008, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3*, Email: nikitina.albinar@gmail.com

Никитина А.Р. SPIN 5421-8308, ORCID 0000-0001-8186-8204

Зиякаева К.Р. SPIN 3834-5307, ORCID 0000-0002-3923-2736

Каюмова А.Ф. SPIN 3949-6591, ORCID 0000-0003-1983-1392

Шамратова В.Г. SPIN 7073-4431, ORCID 0000-0002-7633-4264

Corresponding author: Nikitina Albina Rashitovna — assistant of the Department of Normal Physiology of the Bashkir State Medical University, 450008, Lenin St., 3, Ufa, Russia, Email: nikitina.albinar@gmail.com

Nikitina A.R. ORCID 0000-0001-8186-8204

Ziyakayeva K.R. ORCID 0000-0002-3923-2736

Kayumova A.F. ORCID 0000-0003-1983-1392

Shamratova V.G. ORCID 0000-0002-7633-4264