

## Морфометрический анализ сетчатки глаза крыс при хроническом стрессе в условиях измененной иммунореактивности

А.А. Нестерова<sup>1</sup>, А.О. Довгалев<sup>2</sup>, И.И. Прокофьев<sup>1</sup>, В.Н. Перфилова<sup>1</sup>, И.Н. Тюренков<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России, Волгоград, Россия

<sup>2</sup> АО Семейный доктор, поликлиника № 6, Москва, Россия

**Резюме. Введение.** Одной из особенностей развития современного общества является увеличение влияния на человека психосоциальных факторов, вызывающих стресс-реакцию, которая обуславливает различные морфофункциональные нарушения тканей, в частности сетчатой оболочки глаза. В результате избытка катехоламинов и глюкокортикоидов при стрессе повреждаются нейроны сетчатки глаза, что приводит к потере зрения. В литературе приводятся противоречивые данные о влиянии измененной иммунореактивности на выраженность стресс-ассоциированных изменений органов и тканей, в частности сетчатки, уточнение которых и послужило целью настоящей работы.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на крысах-самцах Вистар, которые были разделены на группы по восемь животных в каждой: 1-я – интактные животные; 2-я – интактные крысы, которым был введен неспецифический иммуноген – эритроциты барана (500 млн клеток в 500 мкл физиологического раствора); 3-я – самцы, подвергавшиеся стрессовому воздействию в течение 7 дней ежедневно по 30 минут со сменой звуковых и световых стрессорных раздражителей; 4-я – животные, которым после стрессового воздействия была выполнена иммунизация. Оценивали изменение микроструктурных и морфометрических параметров сетчатки с использованием световой микроскопии, а также концентрации интерлейкина-6 (ИЛ-6), кортикостерона, адренкортикотропного гормона (АКТГ) и кортикотропин-релизинг-гормона в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа.

**Результаты.** У животных после стрессового воздействия при микроскопическом исследовании отмечались нарушение стратификации слоев, уменьшение ширины наружного и внутреннего ядерных слоев, гиподенситивность и появление «пустых» участков в слоях сетчатки, а также гиперхромных и гидропически измененных нейронов. У животных после стрессового воздействия и введения неспецифического антигена не выявлялись резкие изменения в гистологическом строении сетчатки, что подтверждено морфометрическими расчетами. Также иммунизация приводила к снижению уровня ИЛ-6 в сыворотке крови стрессированных крыс и вызывала сохранение концентрации гормонов стресса на значимо низком уровне, не отличающемся от такового у интактных самцов.

**Заключение.** Иммунизация корпускулярным антигеном на фоне хронического стрессирования способствует сохранению цитоархитектоники сетчатки глаза, а также тормозит стресс-ассоциированную активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы.

**Ключевые слова:** хронический стресс, сетчатка, иммунизация

**Для корреспонденции:** Игорь Игоревич Прокофьев. E-mail: igor.prokofiev@mail.ru

**Для цитирования:** Нестерова А.А., Довгалев А.О., Прокофьев И.И., Перфилова В.Н., Тюренков И.Н. Морфометрический анализ сетчатки глаза крыс при хроническом стрессе в условиях измененной иммунореактивности. Клини. эксп. морфология. 2024;13(3):53–60. DOI: 10.31088/CEM2024.13.3.53-60.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Статья поступила 18.09.2023. Получена после рецензирования 05.10.2023. Принята в печать 20.11.2023.

## Retinal morphometric analysis of the chronically stressed rats with altered immunoreactivity

А.А. Nesterova<sup>1</sup>, А.О. Dovgalev<sup>2</sup>, I.I. Prokofiev<sup>1</sup>, V.N. Perfilova<sup>1</sup>, I.N. Tyurenkov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

<sup>2</sup> JSC “Family Doctor”, Clinic No. 6, Moscow, Russia

**Abstract. Introduction.** Chronic stress is an integral part of a modern industrial society. Chronic stress affects both physical and psychological well-being by causing various morphological and functional changes

in different organ tissues, including the retina. As a result of an excess of catecholamines and glucocorticoids, retinal neurons become damaged, which leads to visual impairment. There are controversial data on how altered immunoreactivity affects the severity of stress-associated changes in organs and tissues, particularly in the retina. Thus, we aimed to study stress-associated changes in the retina.

**Materials and methods.** We performed experiments on 32 Wistar male rats, which were divided into 4 equal groups, group 1 including intact animals. Group 2 consisted of the intact rats that received one injection of a nonspecific immunogen, i.e., ram erythrocytes (500 million cells per 500 microliters of saline). The rats from group 3 were exposed to light and sound stress for 30 minutes 7 days running. The stressed animals that were injected once with a nonspecific immunogen on day 3 of stress exposure comprised group 4. We assessed changes in the microstructural parameters of the retina using light microscopy and measuring interleukin-6 (IL-6), cortisol, adrenocorticotrophic hormone, and corticotropin-releasing hormone in blood serum with enzyme immunoassay.

**Results.** Among the stress-exposed animals, microscopic examination revealed a disruption of the retinal stratification, decreased width of the outer and inner nuclear layers, hypocellularity, “empty” sites in retinal layers, as well as hyperchromically and hydropically altered neurons. In contrast, there were no obvious retinal defects in the stressed animals that received a nonspecific antigen, which was confirmed morphometrically. The immunization was correlated with decreased IL-6 in the blood serum of the stressed rats. The results of blood tests showed a significantly low level of stress-associated hormones, which was not different from that in the intact animals.

**Conclusion.** Nonspecific immunization of laboratory rats under chronic stress leads to preserved retinal cytoarchitectonics and inhibits stress-induced activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal system.

**Keywords:** chronic stress, retina, immunization

**Corresponding author:** Igor I. Prokofiev. E-mail: igor.prokofiev@mail.ru

**For citation:** Nesterova A.A., Dovgalev A.O., Prokofiev I.I., Perfilova V.N., Tyurenkov I.N. Retinal morphometric analysis of the chronically stressed rats with altered immunoreactivity. Clin. exp. morphology. 2024;13(3):53–60 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2024.13.3.53-60.

**Funding.** The study was carried out within the framework of state budget funding.

**Received** 18.09.2023. **Received in revised form** 05.10.2023. **Accepted** 20.11.2023.

## Введение

В современном обществе стресс сопровождает человека всю его жизнь, негативно влияя на ее качество [1]. Как показано многими специалистами, в том числе основоположником теории стресса Гансом Селье, хроническое стрессорное воздействие запускает в организме каскад интегрированных реакций нервной, эндокринной и иммунной систем, которые стимулируют патолофизиологические механизмы, отвечающие за возникновение и развитие нейродегенеративных процессов, ведущих к гибели нервной ткани, образующей в том числе сетчатку оболочку глаза [2–3]. Усиленное влияние симпатической нервной системы и высокий уровень глюкокортикоидов приводят к дисрегуляции тонуса сосудов сетчатки и прямому повреждению ее нейронов, вызывая снижение функций органа зрения [4]. Кроме того, активация симпатоадреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем ведет к окислительному стрессу и воспалительным реакциям, что играет важную роль в патогенезе многих нейродегенеративных заболеваний сетчатки глаза [5].

В свою очередь, активация иммунной системы также вызывает нейроэндокринные изменения, что позволяет предположить более выраженную негативную реакцию со стороны организма в ответ на хроническое стрессирование, что, вероятно, еще больше должно усугублять нейродегенерацию [6–7]. Тем не менее в литературе

описаны результаты исследований, демонстрирующие положительное влияние иммунокомпрометирующих состояний на стресс-ассоциированные изменения нервной ткани. Имеются данные об уменьшении тяжести поражения центральной нервной системы (ЦНС) вследствие модуляции микроглии, несмотря на ее активное вовлечение в патогенетический путь развития нейродегенерации. Авторы объясняют данный эффект различными механизмами, включающими, например, активацию регулируемого интерфероном сигнального пути, а также предотвращение нейровоспалительных реакций [8].

Таким образом, данные литературы об участии иммунной системы в стресс-ассоциированном повреждении сетчатки глаза имеют противоречивый характер и требуют уточнения.

В связи с этим целью нашего исследования стало изучение морфометрических показателей сетчатой оболочки глаза экспериментальных животных, подвергшихся хроническому стрессированию, на фоне иммунизации корпускулярным антигеном.

## Материалы и методы

Экспериментальное исследование выполнено на 32 аутбредных крысах – самцах породы Вистар с исходной массой до стрессирования 360–380 граммов, содержащихся в стандартных условиях вивария

со свободным доступом к воде и пище с 12-часовым световым днем согласно требованиям ГОСТ Р-33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», рекомендациям Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), и директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях. Протокол исследования был одобрен региональным исследовательским этическим комитетом Волгоградской области (протокол 2095-2019 от 25.01.2019).

Были сформированы четыре группы по восемь особей в каждой: 1-я – интактные животные (группа «интакт»); 2-я – интактные крысы, которым был введен неспецифический иммуноген (группа «иммунизация»); 3-я – самцы, подвергшиеся хроническому стрессированию (группа «стресс»); 4-я – стрессированные животные с иммунизацией (группа «стресс + иммунизация»).

Для моделирования стрессовой ситуации экспериментальные животные подвергались хроническому неизбежному стрессу по методике, описанной в нашей предыдущей работе [9]. Адекватность модели оценивали по изменению массы животного, тимуса и надпочечников. Животных выводили из эксперимента на седьмые сутки путем декапитации. После вскрытия желудка определяли степень поражения его слизистой оболочки и выражали в баллах (0 баллов – отсутствие поражений, 1 балл – эрозии, 2 балла – единичные язвы, 3 балла – множественные язвы, 4 балла – прободные язвы).

Иммунизацию животных осуществляли тимус-зависимым корпускулярным антигеном – эритроцитами барана однократно внутрибрюшинно в дозе 500 млн клеток в 500 мкл физиологического раствора на третий день от начала стрессирования. Самцам групп без иммунизации в аналогичном режиме вводили физиологический раствор. У наркотизированных животных (хлоралгидрат, 400 мг/кг) после декапитации энуклеировали глаза, выполняли гистологическую проводку по стандартной методике, описанной в ранее проведенном исследовании [9]. Переднезаднюю секцию глаз осуществляли по методике В.Н. Архангельского [10]. С помощью ротационного микротоме Leica 2125 (Leica Biosystems, Германия) готовили срезы толщиной 6 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином и толуидиновым голубым по методу Ниссля. Количество клеток на единицу площади и площадь нейронов в наружном и внутреннем ядерных слоях сетчатки подсчитывали при увеличении объектива  $\times 40$ , в 10 случайных участках, размером  $512 \times 512$  пикселей, на отрезке сетчатой оболочки длиной 700 мкм, расположенном на расстоянии 800 мкм от края диска зрительного нерва с височной стороны. Для получения изображений сетчатки и их морфометрического анализа использовались камера Tucsen 1000 (Xintu Photonics Ltd (Tucsen), КНР) и программа Image-Pro Plus (Media Cybernetics,

США). Числовые значения площади клеток получали путем очерчивания клетки контуром вручную по их периметру на участках сетчатки, описанных выше. Определение нейроэндокринного и цитокинового статуса проводили с использованием наборов фирмы Cusabio-Rat (КНР) методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Исследовали следующие показатели: кортикотропин-рилизинг-гормон (КТРГ), адренкортикотропный гормон (АКТГ), кортикостерон, интерлейкин-6 (ИЛ-6). Статистическую обработку проводили с использованием стандартных методов вариационной статистики пакета программ Statistica 12 (Statsoft, США). Данные были проверены на нормальность распределения с помощью критериев Шапиро–Уилка, Колмогорова–Смирнова. Для определения статистической значимости отличий между группами применяли критерий Краскела–Уоллиса с пост-хок тестом Данна. Достоверными считали различия при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты

После хронического стрессорного воздействия у животных наблюдалась характерная триада, связанная с активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы: инволюция тимуса, гиперплазия надпочечников и эрозивно-язвенное поражение слизистой оболочки желудка. При иммунизации на фоне стресса отмечена тенденция к сохранению веса животными, а также массы тимуса, надпочечников и состояния слизистой оболочки желудка (табл. 1).

Микроскопический и морфометрический анализ продемонстрировал выраженные нейродегенеративные процессы в сетчатке животных, подвергшихся хроническому мультимодальному стрессированию. При исследовании сетчатой оболочки отмечались нарушение стратификации слоев, уменьшение ширины наружного и внутреннего ядерных слоев, гиподенситность и появление «пустых» участков в слоях сетчатки, а также гиперхромных и гидропически измененных нейронов (рис. 1). Численная плотность клеток (ЧПК) в наружном ядерном слое (НЯС) у животных этой экспериментальной группы уменьшилась по сравнению с интактными животными на 47%, а во внутреннем ядерном слое (ВЯС) – на 42% (табл. 2). Микроскопическая картина сетчатой оболочки глаза у животных группы «стресс + иммунизация» не обнаруживала резких отклонений от таковых у интактных самцов, что подтвердили морфометрические расчеты (табл. 2). В НЯС и ВЯС у животных данной группы ЧПК была меньше в среднем на 13,5 и 7,1%, соответственно, по сравнению с интактными животными и на 63,3 и 60,5%, соответственно, выше относительно таковой у стрессированных крыс (рис. 1, табл. 2). В своей предыдущей работе мы отмечали аналогичные изменения при хроническом стрессорном воздействии относительно толщины НЯС и ВЯС. Толщина слоев в данном случае коррелировала с численной плотностью клеток,

что свидетельствует о повреждении сетчатки глаза при хроническом стрессе [7].

Как известно, дистрофические изменения в клетке определяют необратимые процессы, ведущие к гибели ткани. С учетом того, что дистрофия нейронов проявляется таким морфологическим признаком как острое набухание, нами была рассчитана средняя пло-

щадь клеток в наружном и внутреннем ядерных слоях сетчатки (табл. 2). Выявлено, что средняя площадь клеток НЯС и ВЯС в сетчатке у животных в группе «стресс» увеличилась практически в 2 раза по сравнению с таковой у интактных самцов, что предполагает вероятное развитие дистрофических изменений в нейронах сетчатки глаза под воздействием хронического

Таблица 1 | Table 1

**Изменение веса экспериментальных животных, массы тимуса и правого надпочечника, поражения слизистой оболочки желудка животных исследуемых групп (M±SD, для показателя «Степень поражения слизистой оболочки желудка» – Me [Q1; Q3]) | The changes in the weight of the experimental animals, the weight of the thymus and right adrenal gland; the lesions of gastric mucosa in the animals of the studied groups (M±SD, for the parameter “Degree of gastric mucosa damage” – Me [Q1; Q3])**

Группы   Groups	Средняя масса животного, г   Average animal weight, g	Средняя масса тимуса, г   Average weight of the thymus, g	Средняя масса правого надпочечника, г   Average weight of the right adrenal gland, g	Степень поражения слизистой оболочки желудка, средний балл   Degree of damage to the gastric mucosa, average score
Группа 1 (n=8)   Group 1	370±30	0,62±0,06	0,020±0,004	0 (0; 0)
Группа 2 (n=8)   Group 2	367±22	0,58±0,03	0,034±0,005	0 (0; 0)
Группа 3 (n=8)   Group 3	330±15*	0,41±0,05*	0,032±0,009*	2,5 (2; 3)
Группа 4 (n=8)   Group 4	350±20	0,48±0,03#	0,026±0,002	1,5 (1; 2)

Изменения статистически значимы (критерий Краскела–Уоллиса с пост-хок тестом Данна,  $p < 0,05$ ) относительно: \* интактных животных; # стрессированных крыс без иммунизации.

The changes are statistically significant (Kruskal–Wallis test with Dunn’s post-hoc test,  $p < 0,05$ ) relative to \* intact animals (Group 1), # stressed rats without immunization (Group 3).

Таблица 2 | Table 2

**Численная плотность и средняя площадь клеток в наружном и внутреннем ядерных слоях сетчатки глаза крыс исследуемых групп | Cell density and average cell size in the outer and inner nuclear retinal layers in the rats of the studied groups**

Группы   Groups	Численная плотность клеток в НЯС   Cell density in the outer nuclear layer	Численная плотность клеток в ВЯС   Cell density in the inner nuclear layer	Средняя площадь клеток в НЯС, мкм <sup>2</sup>   Average cell size in the outer nuclear layer, μm <sup>2</sup>	Средняя площадь клеток в ВЯС, мкм <sup>2</sup>   Average cell size in the inner nuclear layer, μm <sup>2</sup>
Группа 1 (n=8)   Group 1	68,0±3,1	28,1±0,6	9,7±1,5	11,2±2,1
Группа 2 (n=8)   Group 2	56,6±1,2*	24,2±0,7	11,9±2,9	13,8±2,2
Группа 3 (n=8)   Group 3	36±1,3*	16,2±0,9*	19,8±2,6*	23,1±1,6*
Группа 4 (n=8)   Group 4	58,8±2,1#	26,4±0,9#	11,5±2,0#	13,6±1,7#

Изменения статистически значимы (критерий Краскела–Уоллиса с пост-хок тестом Данна,  $p < 0,05$ ) относительно:

\* интактных животных; # стрессированных крыс без иммунизации.

НЯС – наружный ядерный слой, ВЯС – внутренний ядерный слой

The changes are statistically significant (Kruskal–Wallis test with Dunn’s post-hoc test,  $p < 0,05$ ) relative to \* intact animals (Group 1), # stressed rats without immunization (Group 3).

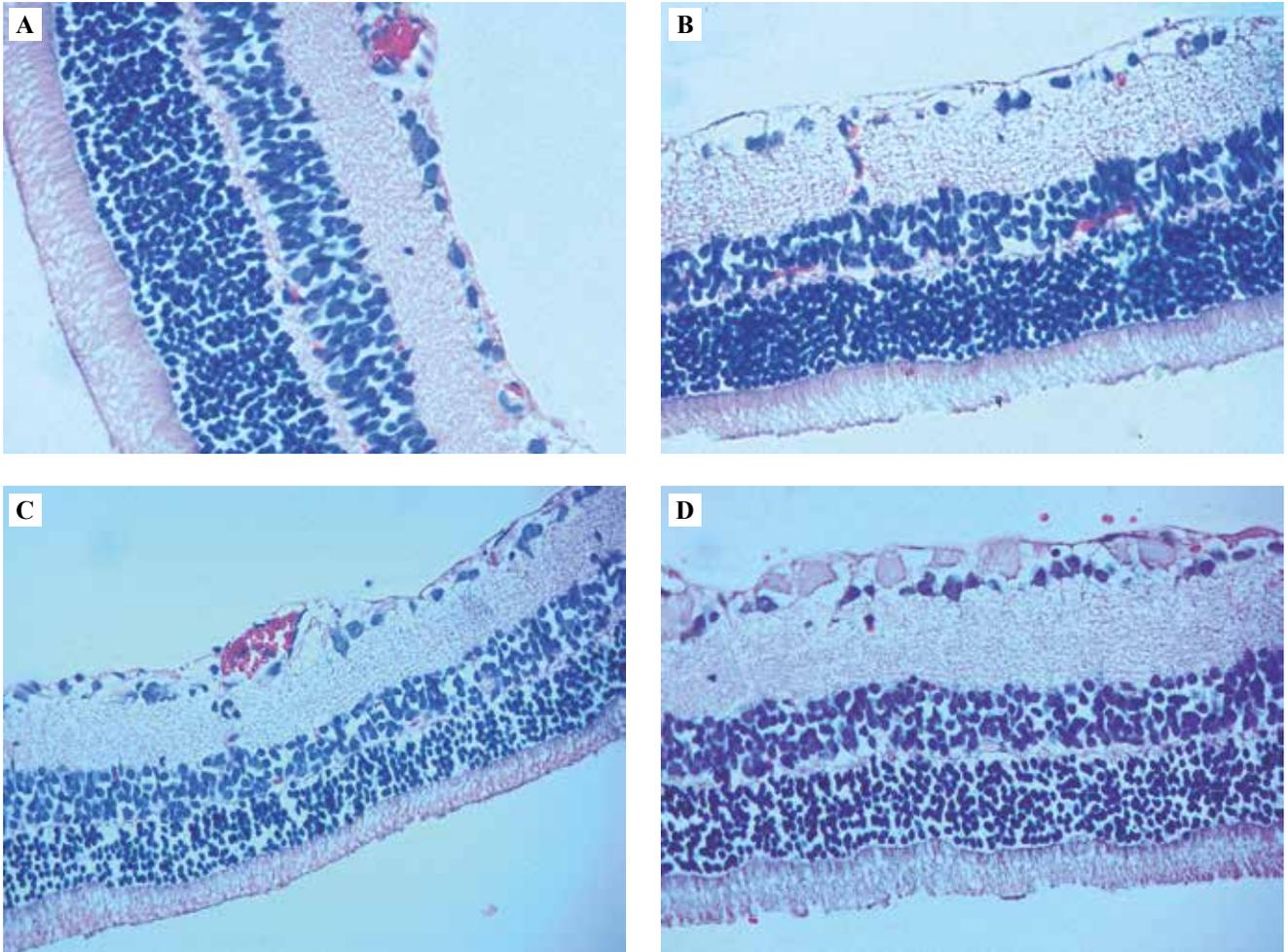


Рис. 1. Микроскопическая картина сетчатки глаза.

А – интактные животные, В – группа «интакт + иммунизация», С – группа «стресс», D – группа «стресс + иммунизация». Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 400$

Fig. 1. The retinal microscopic picture.

A – intact animals (Group 1), B – intact + immunization group (Group 2), C – stressed animals (Group 3), D – stress + immunization group (Group 4). H&E stain,  $\times 400$

комбинированного стрессора. В группе «стресс + иммунизация» клеточная площадь в НЯС и ВЯС была меньше на 41,9 и 41,1%, соответственно, по сравнению с аналогичными показателями группы стрессированных животных. Морфометрический анализ показал, что площадь клеток сетчатки у иммунизированных животных без воздействия стрессорного фактора практически не отличалась от этого показателя у интактных крыс. На основании полученных данных можно сделать вывод о положительном влиянии иммунизации на морфометрические показатели сетчатки глаза экспериментальных животных при хроническом стрессе.

О позитивной роли иммунизации свидетельствует и анализ изменения концентрации провоспалительного цитокина ИЛ-6 и гормонов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. У иммунизированных стрессированных животных выявлено снижение уровня ИЛ-6 в периферической крови на 32,4% отно-

сительного такового у крыс группы «стресс» (табл. 3). При этом полученные данные об уровне стресс-ассоциированных гормонов продемонстрировали, что хроническое стрессорное воздействие приводит к увеличению концентрации кортикостерона, АКТП и КТРГ на 79,2, 50,0 и 30,0%, соответственно. Иммунизация корпускулярным антигеном вызывала сохранение концентрации исследуемых гормонов в плазме крови стрессированных животных на значимо низком уровне, статистически не отличающемся от такового у интактных самцов (табл. 3).

### Обсуждение

Современная теория стресса утверждает, что взаимодействие нервной, иммунной и эндокринной систем определяет его парадигму, которая зависит от таких ключевых медиаторов как кортикостероиды, катехоламины и цитокины. Взаимодействие нервной и им-

**Уровни ИЛ-6 и гормонов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы в сыворотке экспериментальных и контрольных животных | Levels of IL-6 and hormones of the hypothalamic-pituitary-adrenal system in the serum of the experimental and control animals**

Группы   Groups	ИЛ-6, пг/мл   IL-6, pg/ml	Кортикостерон, нг/мл   Corticosterone, ng/ml	АКТГ, пг/мл   ACTH, pg/ml	КТРГ, нг/мл   CRH, ng/ml
Группа 1   Group 1	3,0±0,2	14,4±2,2	11,0±2,5	0,40±0,08
Группа 2   Group 2	3,2±0,4	16,4±2,0	14,0±3,1	0,47±0,10
Группа 3   Group 3	3,7±0,4*	25,8±3,8*	16,5±1,9*	0,52±0,11*
Группа 4   Group 4	2,5±0,3#	18,6±2,2#	13,5±1,5#	0,41±0,09#

Изменения статистически значимы (критерий Краскела–Уоллиса с пост-хок тестом Данна,  $p < 0,05$ ) относительно:

\* – интактных животных; # – стрессированных крыс без иммунизации

ИЛ-6 – интерлейкин-6, АКТГ – аденокортикотропный гормон, КТРГ – кортикотропин-рилизинг гормон

The changes are statistically significant (Kruskal–Wallis test with Dunn's post-hoc test,  $p < 0.05$ ) relative to \* intact animals (Group 1), # stressed rats without immunization (Group 3)

IL-6 – interleukin-6, ACTH – adrenocorticotrophic hormone, CRH – corticotropin-releasing hormone

мунной систем опосредуется перечисленными выше гуморальными факторами и межклеточными рецепторопосредованными контактами [2, 3]. Напряжение иммунной реактивности при стрессе вызывает трансформацию нейроэндокринных изменений в организме [11]. Иммунный ответ является реакцией организма на стресс, что определяется высвобождением гормонов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и других медиаторов и вызывает общие и локальные эффекты. Как было показано рядом исследователей, в эксперименте у стрессированных животных, подвергшихся иммунизации корпускулярным антигеном, не наблюдалось увеличения числа лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови в отличие от неиммунизированных стрессированных животных [7]. Полученные нами результаты согласуются с указанными данными и свидетельствуют об ограничении негативного влияния стресс-реакции на организм в целом и на сетчатку в частности. Тем не менее в этой же работе продемонстрирована тенденция к увеличению уровня стресс-гормонов под влиянием иммунизации на фоне хронического стрессорного воздействия. Разнонаправленность полученных результатов можно объяснить разным генетически обусловленным уровнем активности стресс-лимитирующих систем, определяющих индивидуальную стрессоустойчивость животных [12].

Известно, что важнейшим компонентом иммунной системы в нервной ткани является микроглия, участвующая в защите от различных повреждений, однако в настоящее время нет единого мнения относительно ее роли в процессе нейродегенерации. Отмечается как нейротоксический, так и нейротрофический эффект микроглиального окружения на нейроны. Одни исследователи обнаруживают уменьшение дегенерации ретинальных нейроцитов при супрессии микроглии, в то время как другие показывают положительное нейротрофическое влияние активированных микроглиальных

клеток на фоторецепторы, причем их активация в сетчатке происходит в результате прямых межклеточных контактов с локальными Т-лимфоцитами [13–16]. Было показано, что Т-лимфоциты способны пересекать гематоретинальный барьер и устанавливать контакты с микроглиальными клетками. Тем не менее разные исследовательские группы сходятся в одном – микроглия сетчатки является тем посредником, который обеспечивает двустороннюю связь между сетчаткой и нервной тканью с одной стороны и иммунной системой организма с другой стороны [16–19]. С этой точки зрения логично утверждать, что любое напряжение иммунитета, подобное таковому, которое развивается при иммунизации и/или стрессе, имеет свое отражение в структурах сетчатки оболочки через ее модуляцию в соответствии с принятым сигналом из ЦНС. Отмечается, что клетки микроглии в ответ на активацию увеличивают экспрессию TNF- $\alpha$ , индукцибельной NO-синтазы и Fas-лиганда, а также участвуют в аутоиммунных процессах. Кроме того, важную роль в инициации иммунных реакций играют дендритные клетки, участвующие в генерировании цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов [20]. Хронический стресс, вероятно через задействование общих иммуноэндокринных и локальных механизмов, опосредованных микроглией, вызывает нейродегенеративные процессы и гибель клеток сетчатки.

Объяснение механизма нейротрофического действия иммунизации требует детальной проработки, однако в некоторых работах авторы пришли к выводу, что иммунизация стимулирует дифференцировку регуляторных Т-клеток, которые способны проникать в нервную ткань, включая сетчатку, и блокировать эффекторные иммунные клетки [19]. Приведенные данные коррелируют с результатами другого исследования, демонстрирующими участие CD4+CD25+ регуляторных Т-лимфоцитов при иммунизации. Эти

клетки способны подавлять локальный иммунный ответ и поддерживать иммунный гомеостаз через модуляцию активности микроглиальных элементов, которые при иммунизации переключают свой фенотип с CD200R+ на иммунотолерантный CD154+, CD103+ и CD54+, способный блокировать активацию клеточной гибели, что может быть объяснением полученных нами результатов [17].

### Заключение

Хроническое стрессирование приводит к выраженным изменениям сетчатки глаза животных, проявляющихся в нарушении строения клеточных слоев, уменьшении количества нейронов на единицу площади в наружном и внутреннем ядерных слоях, увеличении площади клеток. У самцов, подвергшихся стрессу, значительно повышается уровень провоспалительного цитокина ИЛ-6, а также концентрации гормонов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Иммунизация стрессированных крыс способствует сохранности цитоархитектоники сетчатой оболочки, что сопровождается поддержанием концентрации стресс-ассоциированных гормонов на значимо низком уровне. Полученные данные могут стать основой для дальнейшего определения механизма стрессорного повреждения сетчатки, а также разработки новых терапевтических мишеней торможения нейродегенерации в сетчатой оболочке глаза.

### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – И.Н. Тюренков, В.Н. Перфилова, А.А. Нестерова.  
Сбор и обработка материала – А.А. Нестерова, А.О. Довгалева, И.И. Прокофьев.  
Написание текста – А.А. Нестерова, И.И. Прокофьев.  
Редактирование – И.Н. Тюренков, В.Н. Перфилова.

### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – I.N. Tyurenkov, V.N. Perfilova, A.A. Nesterova.  
Collected the data and performed the analysis – A.A. Nesterova, A.O. Dovgalev, I.I. Prokofiev.  
Wrote the paper – A.A. Nesterova, I.I. Prokofiev.  
Edited the manuscript – I.N. Tyurenkov, V.N. Perfilova.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interests.

### Литература/References

1. *Parsaei R, Roohafza H, Feizi A, Sadeghi M, Sarrafzadegan N.* How different stressors affect quality of life: an application of multilevel latent class analysis on a large sample of industrial employees. *Risk Manag Healthc Policy.* 2020;13:1261–70. DOI: 10.2147/RMHP.S256800.
2. *Selye H.* Stress and the general adaptation syndrome. *Br Med J.* 1950;1(4667):1383–92. DOI: 10.1136/bmj.1.4667.1383.
3. *Haykin H, Rolls A.* The neuroimmune response during stress: a physiological perspective. *Immunity.* 2021;54(9):1933–47. DOI: 10.1016/j.immuni.2021.08.023.
4. *Sabel BA, Wang J, Cárdenas-Morales L, Faiq M, Heim C.* Mental stress as consequence and cause of vision loss: the dawn of psychosomatic ophthalmology for preventive and personalized medicine. *EPMA J.* 2018;9(2):133–60. DOI: 10.1007/s13167-018-0136-8.
5. *Jadeja RN, Martin PM.* Oxidative stress and inflammation in retinal degeneration. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(5):790. DOI: 10.3390/antiox10050790.
6. *McCusker RH, Kelley KW.* Immune–neural connections: how the immune system’s response to infectious agents influences behavior. *J Exp Biol.* 2013;216(Pt. 1):84–98. DOI: 10.1242/jeb.073411.
7. *Тюренков И.Н., Филина И.С., Гумилевский Б.Ю., Волотова Е.В., Бакулин Д.А.* Влияние иммунизации на адаптационные механизмы при хроническом стрессировании животных. *Фундаментальные исследования.* 2014;7-2:368–371. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21736733> (получено 14.09.2023).
8. *Tyurenkov IN, Filina IS, Gumilevskiy BY, Volotova EV, Bakulin DA.* The influence of immunization on adaptation by chronic stress of animals. *Fundamental Research.* 2014;7-2:368–371 (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21736733> (accessed 14.09.2023).
9. *Gu Y, Ye T, Tan P, Tong L, Ji J, Gu Y et al.* Tolerance-inducing effect and properties of innate immune stimulation on chronic stress-induced behavioral abnormalities in mice. *Brain Behav Immun.* 2021;91:451–71. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.11.002.
10. *Нестерова А.А., Ермилов В.В., Тюренков И.Н., Смирнов А.В., Григорьева Н.В., Загребин В.Л. и др.* Характеристика сетчатки глаза при хроническом стрессе у лабораторных крыс разных возрастных групп. *Морфология.* 2016;149(1):43–47. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25621262> (получено 14.09.2023).
11. *Nesterova AA, Yermilov VV, Tyurenkov IN, Smirnov AV, Grigoriyeva NV, Zagrebina VL et al.* Characteristics of the retina in chronic stress in laboratory rats of different age groups. *Morphology.* 2016;149(1):43–47 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25621262> (accessed 14.09.2023).
12. *Архангельский В.Н.* Введение к микроскопическому исследованию глаза. Москва: ГУ, 1926. 103 с.
13. *Arkhangelskii VN.* Introduction to microscopic examination of the eye. Moscow: GU, 1926. 103 p. (In Russ.).
14. *Sundareswaran L, Srinivasan S, Wankhar W, Sheeladevi R.* Effect of Scoparia dulcis on noise stress induced adaptive immunity and cytokine response in immunized Wistar rats. *J Ayurveda Integr Med.* 2017;8(1):13–9. DOI: 10.1016/j.jaim.2016.10.004.
15. *Тюренков И.Н., Перфилова В.Н., Прокофьев И.И.* Влияние иммобилизационно-болевого стрессорного воздействия на животных с различным фенотипом реагирования в условиях блокады NO-синтазы. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2016;6-2:292–296. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25997074> (получено 14.09.2023).
16. *Tyurenkov IN, Perfilova VN, Prokofiev II.* Influence of immobilization-painful stress on animals with different phenotypes response in the conditions NO-synthase blockade. *International Journal of Applied and Fundamental Research.* 2016;6-

- 2:292–296 (In Russ.). Available from: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25997074> (accessed 14.09.2023).
13. Guo L, Choi S, Bikkannavar P, Cordeiro MF. Microglia: key players in retinal ageing and neurodegeneration. *Front Cell Neurosci.* 2022;16:804782. DOI: 10.3389/fncel.2022.804782.
  14. Fernández-Albarral JA, Salobrar-García E, Martínez-Páramo R, Ramírez AI, de Hoz R, Ramírez JM et al. Retinal glial changes in Alzheimer's disease – a review. *J Optom.* 2019;12(3):198–207. DOI: 10.1016/j.optom.2018.07.001.
  15. Fischer AJ, Zelinka C, Milani-Nejad N. Reactive retinal microglia, neuronal survival and the formation of retinal folds and detachments. *Glia.* 2015;63(2):313–27. DOI: 10.1002/glia.22752.
  16. Langmann T. Microglia activation in retinal degeneration. *J Leukoc Biol.* 2007;81(6):1345–51. DOI: 10.1189/jlb.0207114.
  17. Christiansen JR, Olesen MN, Otzen DE, Romero-Ramos M, Sanchez-Guajardo V.  $\alpha$ -Synuclein vaccination modulates regulatory T cell activation and microglia in the absence of brain pathology. *J Neuroinflammation.* 2016;13(1):74. DOI: 10.1186/s12974-016-0532-8.
  18. Ferrer-Martín RM, Martín-Oliva D, Sierra-Martín A, Carrasco MC, Martín-Estebané M, Calvente R et al. Microglial activation promotes cell survival in organotypic cultures of post-natal mouse retinal explants. *PLoS One.* 2015;10(8):e0135238. DOI: 10.1371/journal.pone.0135238.
  19. Avidan H, Kipnis J, Butovsky O, Caspi RR, Schwartz M. Vaccination with autoantigen protects against aggregated beta-amyloid and glutamate toxicity by controlling microglia: effect of CD4+CD25+ T cells. *Eur J Immunol.* 2004;34(12):3434–45. DOI: 10.1002/eji.200424883.
  20. Яглова Н.В., Обернихин С.С., Яглов В.В., Назимова С.В. Роль дендритных и тучных клеток кожи в развитии иммунных реакций. *Клиническая и экспериментальная морфология.* 2021;10(1):5–10. DOI: 10.31088/CEM2021.10.1.510.  
Yaglova NV, Obernikhin SS, Yaglov VV, Nazimova SV. Role of skin dendritic and mast cells communications in triggering immune reactions. *Clinical experimental morphology.* 2021;10(1):5–10 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2021.10.1.510.

### Информация об авторах

Алла Анатольевна Нестерова – кандидат медицинских наук, доцент кафедры теоретической биохимии с курсом клинической биохимии Волгоградского государственного медицинского университета.

Андрей Олегович Довгалева – врач-офтальмолог поликлиники № 6 АО «Семейный доктор».

Игорь Игоревич Прокофьев – кандидат медицинских наук, доцент кафедры судебной медицины Волгоградского государственного медицинского университета.

Валентина Николаевна Перфилова – доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры фармакологии и фармации Института непрерывного медицинского и фармацевтического образования Волгоградского государственного медицинского университета.

Иван Николаевич Тюренков – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой фармакологии и фармации Института непрерывного медицинского и фармацевтического образования Волгоградского государственного медицинского университета.

### Author information

Alla A. Nesterova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Theoretical Biochemistry and Clinical Biochemistry, Volgograd State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0001-7249-3906>

Andrey O. Dovgalev – Ophthalmologist, Clinic No. 6, JSC “Family Doctor”.

<https://orcid.org/0009-0005-2212-0948>

Igor I. Prokofiev – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Forensic Medicine, Volgograd State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-7939-8212>

Valentina N. Perfilova – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Professor, Department of Pharmacology and Pharmacy, Institute of Continuing Medical and Pharmaceutical Education, Volgograd State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-2457-8486>

Ivan N. Tyurenkov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Pharmacology and Pharmacy, Institute of Continuing Medical and Pharmaceutical Education, Volgograd State Medical University.

<http://orcid.org/0000-0001-7574-3923>