

МАКРО- И МИКРОМОРФОЛОГИЯ

УДК616-097:621.375.826

Оригинальная статья

КИНЕТИКА КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ТИМУСА ПОД ВЛИЯНИЕМ ИНФРАКРАСНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

И.О. Бугаева – ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, проректор по общественным связям и воспитательной работе, заведующая кафедрой гистологии, профессор, доктор медицинских наук; **А.В. Егорова** – ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, ассистент кафедры гистологии, кандидат медицинских наук; **О.В. Злобина** – ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, ассистент кафедры гистологии.

KINETIKS OF CELLULAR POPULATIONS UNDER INFLUENCE OF INFRA-RED LOW-POWER LASER IRRADIATION

I.O. Bugaeva – Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovskiy, Pro-rector of Public Relations and Educational work, Head of Department of Histology, Professor, Doctor of Medical Science; **A.V. Egorova** – Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovskiy, Department of Histology, Assistant, Candidate of Medical Science, **O.V. Zlobina** – Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovskiy, Department of Histology, Assistant.

Дата поступления — 01.12.09 г.

Дата принятия в печать — 15.02.10 г. 15.02.10 г.

И.О. Бугаева, А.В. Егорова, О.В. Злобина. Кинетика клеточных популяций тимуса под влиянием инфракрасного лазерного излучения. Саратовский научно-медицинский журнал, 2010, том 6, № 1, с. 23–26.

Исследовано влияние низкоинтенсивного инфракрасного лазерного излучения на морфокинетику клеточных популяций тимуса здоровых экспериментальных животных. Установлено, что число тимоцитов коркового вещества тимуса под влиянием низкоинтенсивного инфракрасного лазерного излучения снижается, что связано с миграционными процессами и уходом тимоцитов на другие территории. Проникновение тканевых базофилов в строму тимуса и их контакт с ретикуло-эпителиальными клетками является важным фактором для стимуляции процессов пролиферации и дифференцировки тимоцитов.

Ключевые слова: низкоинтенсивное инфракрасное лазерное излучение, тимус, клеточные популяции.

I.O. Bugaeva, A.V. Egorova, O.V. Zlobina. Kinetiks of cellular populations under influence of infra-red low-power laser irradiation. Saratov Journal of Medical Scientific Research, 2010, vol. 6, № 1, p. 23–26.

The morphokinetics of cellular populations under the influence of infra-red low-power laser irradiation has been studied. Our researchers evidenced, that the number of cortical thymocytes decreases under the influence of infra-red low-power laser irradiation. Invasion of Mast cells in to the stroma of thymus and their contact with the reticuloepithelocytes are the important factors for the stimulation of proliferation and differentiation of thymocytes.

Key words: infra-red low-power laser irradiation, thymus, cellular populations.

Введение. Тимус как орган обнаружен первыми анатомами эпохи Возрождения. Однако до последнего времени роль его в организме оставалась загадочной. В начале 60-х годов XX века были получены факты, доказавшие участие тимуса в процессе иммуногенеза. По современным представлениям, тимус — это центральный орган системы иммунитета, контролирующей созревание и функциональную активность лимфоцитов, которые осуществляют иммунный надзор в организме [1, 2]. Тимоциты по своим морфологическим свойствам практически не отличаются от обычных лимфоцитов и характеризуются округлыми ядрами с грубым глыбчатым строением хроматина и небольшим количеством цитоплазмы. Тимус является лимфоэпителиальным органом, эпителиальная часть которого — стабильная составляющая, имеющая местное происхождение. Особенностью тимоцитов является высокая митотическая активность и повышенная чувствительность к действию ионизирующего излучения, химических канцерогенов и стероидных гормонов.

Лимфоидные элементы (собственно тимоциты) определяются как транзиторные [3]: их предшественники мигрируют в тимус из красного костного мозга, а большая часть созревших в тимусе Т-лимфоцитов мигрирует в периферический отдел иммунной систе-

мы, где они включаются в функциональный рециркулирующий пул Т-клеток. Это делает тимус чрезвычайно чувствительным к различного рода воздействиям и, в частности, к лучевым.

ИК лазерное излучение обладает высокой проникающей способностью [4]. Т.о., при облучении передней брюшной стенки мышей, воздействию ИК излучения подвергаются все органы и ткани животного. В современной научной литературе крайне скудны и противоречивы сведения о влиянии низкоинтенсивного лазерного излучения на структуру и функции вилочковой железы.

Целью нашего исследования явилось комплексное изучение морфокинетики тимуса здоровых экспериментальных животных под влиянием низкоинтенсивного инфракрасного лазерного излучения с использованием терапевтического лазерного аппарата «Узор». Основными параметрами исследуемой проблемы явились: изучение кинетики клеточных популяций тимуса, измерение относительной массы вилочковой железы, подсчет корково-мозгового индекса в процессе воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения на экспериментальных животных.

Методы. Эксперименты проведены на 570 белых крысах-самцах массой 180-200 г. Облучение передней брюшной стенки животных проводилось контактно-зеркальным методом при помощи аппарата АЛТ «Узор», который является полупроводниковым лазерным инжектором на арсениде галлия. Параметры лазерного излучения, генерируемого этим

Ответственный автор — Егорова Анна Валериевна
410012 г. Саратов, ул. Б. Казачья, 112,
ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава
Тел.: (8452) 66-98-05, 66-98-04
E-mail: AV_Egorova @ BK. RU

аппаратом: длина волны 890 нм импульсная частота 1500 Гц; экспозиция 128 с. Средняя мощность излучения (P, по паспорту прибора) составляла для частоты излучения 1500 Гц – 4 мВт. Плотность энергии излучения на поверхности кожи животного (E) рассчитывалась по формуле

$$E = fPt,$$

где E – плотность энергии излучения на поверхности кожи (Дж/см²); f – частота следования импульсов излучения (Гц); t – длительность лазерного импульса (с); P – средняя мощность лазерного излучения (Вт).

Поглощенная доза (W) рассчитывалась по формуле:

$$W = \frac{IT(1 - Kft)}{Sx}$$

где W – поглощенная (введенная) доза энергии (Дж/см); x – глубина расположения объекта; i – мощность излучения на данной глубине (Вт) (выбирается из специальных таблиц в зависимости от импульсной воздействующей мощности излучения и глубины расположения объекта); T – время экспозиции; K – коэффициент отражения кожи для длины волны 890 нм (0,38); f – частота следования импульсов излучения (Гц); S – площадь воздействия на поверхность биоткани (см). В условиях проводимого эксперимента T = 128 с, f = 1500 Гц, t = 200 × 10⁻⁸ с, S = 6 см, плотность энергии на поверхности кожи для частоты 1500 Гц составила 12,6 × 10⁻³ Дж/см². Облучение животных проводилось ежедневно в течение 10 дней (10 сеансов).

Группу контрольных животных составили 80 крыс-самцов линии Вистар массой 180-200 г, что соответствует возрасту около 3-х месяцев.

Для гистологических и гистохимических исследований выделенный у животных тимус фиксировали в 7% нейтральном формалине. После стандартной гистологической проводки в спиртах возрастающей концентрации материал просветляли в ксилоле и за-

ливали в парафин. Серийные срезы тимуса толщиной 5-7 мкм окрашивали:

- гематоксилином-эозином (для подсчета клеточных элементов);
- толуидиновым синим (для выявления метакромазии тучных клеток).

Подсчет клеточных элементов (малых, средних, больших лимфоцитов, плазмочитов, тучных клеток, иммунобластов) проводили в различных функциональных зонах тимуса стандартным методом при увеличении 200, 400, 900, 1350 с использованием специализированной морфометрической сетки (Авандилов Г.Г., 1972, 1992) в 10 полях зрения на условной единице площади (6400 мкм). Фотосъемка гистологических препаратов проводилась с помощью цифровой фотокамеры SCOPETEK DCM 35 с программой обработки изображений MiniSee 2.0.

Результаты. При измерении относительной массы вилочковой железы облученных животных во все сроки наблюдения существенных изменений, по сравнению с контролем, выявлено не было. Подсчет корково-мозгового индекса выявил некоторое снижение этого показателя через сутки после 1-го сеанса облучения с тенденцией к его увеличению на 3-и сутки опыта. На 7-е (7 сеансов облучения) и 15-е (спустя 5 дней после окончания облучения) сутки наблюдалось увеличение корково-мозгового индекса (табл. 1).

К 21-м суткам данный показатель приближался к контрольному и оставался таковым до 30-х суток наблюдения.

Морфокинетика клеточных элементов тимуса характеризовалась незначительным угнетением лимфоцитопоза в корковом веществе в 1-е и 3-и сутки наблюдения: количество малых лимфоцитов составило, соответственно, 120,0 ± 4,4 и 115,4 ± 3,06 (при 144,6 ± 3,1 в контроле, p < 0,01). Уменьшалась плотность расположения тимоцитов, что было наиболее заметно в субкапсулярной зоне, где обнаруживались

Таблица 1

Значения корково-мозгового индекса в тимусе мышей после воздействия НИЛИ (M ± m)

Контроль	ИК лазерное облучение (сутки эксперимента)					
	1	3	7	15	21	30
2,05 ± 0,09	1,2 ± 0,09*	3,1 ± 0,1*	3,3 ± 0,08*	2,9 ± 0,09*	1,95 ± 0,06	2,0 ± 0,1

Примечание: * – различия достоверны по сравнению с контролем (p < 0,05).

Таблица 2

Количественная динамика тимоцитов в корковом веществе вилочковой железы экспериментальных животных при облучении ИК лазером. (абс. число/ед. площади, M ± m)

Группы	сутки эксперимента	Название клеточных элементов		
		Малые	Средние	Бласты
Контроль		144,6 ± 3,1	17,2 ± 0,8	4,8 ± 0,3
	24 часа после первого сеанса (1 сутки эксперимента)	120,0 ± 4,4*	8,3 ± 0,5*	2,1 ± 0,9
Облучение	3 сутки	115,4 ± 3,06*	10,3 ± 0,8*	6,5 ± 0,1
	7 сутки	149,4 ± 4,3	26,7 ± 0,9*	8,6 ± 0,3*
	15 сутки	150,6 ± 3,6	19,4 ± 1,1	7,1 ± 0,2
	21 сутки	145,2 ± 4,1	17,9 ± 0,7	4,9 ± 0,8
	30 сутки	144,6 ± 3,1	17,2 ± 0,8	4,8 ± 0,3

Примечание: * – различия достоверны по сравнению с контролем (p < 0,05).

единичные тучные клетки с признаками дегрануляции (рис. 1). Угнетение сменялось выраженным усилением пролиферативной активности корковых тимоцитов на 15-е сутки: число малых лимфоцитов составило $154,1 \pm 3,6$ (при $144,6 \pm 3,1$ в контроле, $p < 0,01$). Эта тенденция отчетливо проявлялась в наиболее репродуктивной подкапсулярной зоне тимуса. Клеточность в этой области увеличивалась, тканевые базофилы сохраняли нетипичную локализацию, оставаясь в субкапсулярной зоне (рис. 2). Эпителиальные клетки на гистологических препаратах были гипертрофированы, в некоторых из них отмечались фигуры митоза.

В кортико-медуллярной зоне на 3-7-е сутки облучения выявлялись признаки активации тимоцитов в виде увеличения размеров, вплоть до бластной трансформации. Иммунобласты составляли $6,5 \pm 0,1$ на 3-и сутки и $8,6 \pm 0,3$ – на 7-е сутки (при $2,1 \pm 0,09$ в контроле, $p < 0,01$). Эти показатели приближались к контрольным на 21-е и 30-е сутки (табл. 2).

Мозговое вещество тимуса, в первые сутки наблюдения, содержало большее по сравнению с контролем количество средних и малых тимоцитов, что указывает на усиление процессов миграции зрелых клеток в мозговое вещество уже через 24 ч после первого сеанса облучения.

В последующие сроки эксперимента отмечалась тенденция к нарастанию интенсивности дифференцировки и миграции тимоцитов в мозговое вещество. С 7-х по 15-е сутки содержание мозговых тимоцитов было максимальным. В дальнейшем число малых лимфоцитов этой зоны нормализовалось, а уровень средних лимфоцитов оставался существенно выше контрольного.

Содержание тканевых базофилов увеличивалось спустя 24 ч после первого сеанса облучения, нарастало на 3-и и 7-е сутки. Гипертрофированные тучные клетки с признаками дегрануляции в эти сроки наблюдения обнаруживались в паренхиме тимуса в подкапсулярной зоне и хорошо выявлялись при окрашивании толуидиновым синим, а также метиловым зеленым и пиронином по Браше.

В последующие дни исследования количество этих клеточных форм заметно снижалось (ниже контрольного показателя) к 15-м суткам эксперимента. Восстановление содержания тканевых базофилов произошло к 30-м суткам наблюдения (табл. 3).

Обсуждение. Таким образом, низкоинтенсивное ИК лазерное излучение оказывает выраженное влияние на клеточный состав паренхимы и стромы тимуса. Обнаруженное нами на 3-и сутки эксперимента уменьшение клеточности тимуса может являться следствием активации под влиянием НИЛИ стресс-реализующих систем и включения механизмов общего адаптационного синдрома [5]. Возникающая при этом стимуляция структур гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы приводит к освобождению глюкокортикоидов, которые уменьшают количество тимоцитов в корковом веществе тимуса [3, 6]. Одна-

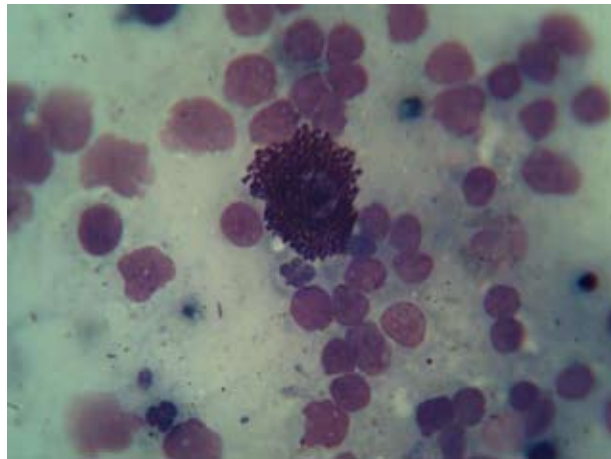


Рис. 1. Тучные клетки тимуса с выраженными признаками дегрануляции (7-е сутки лазерного воздействия). Мазок отпечаток. Окр. по Романовскому-Гимза. Об.90, ок. 15

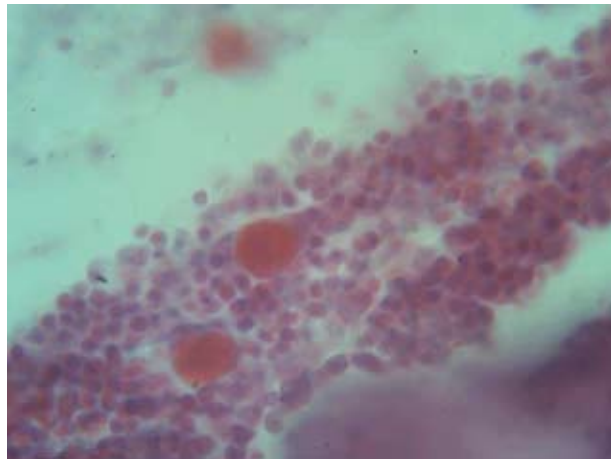


Рис. 2. Тучные клетки в субкапсулярной зоне тимуса (1-3и сутки облучения). Окр. метиловый зеленый, пиронин. Об.90, ок.15

ко, исследования последних лет [7], показывают, что клеточный состав тимуса на фоне воздействия стрессоров различной природы (звук, вибрация, введение вакцин, помещение в электромагнитное поле) претерпевает самые разнообразные изменения, трактовка которых неоднозначна. В соответствии с представлениями авторов, эти изменения носят фазный характер и касаются всех ростков, а также ретикулоэпителиальной стромы. Одним из наиболее характерных моментов при этом является накопление в ткани тимуса широкоплазменных лимфоцитов с повышенной пиронинофилией цитоплазмы. Одновременно наблюдаются изменения, характеризующие некоторые подвижки в метаболических процессах. Число тимоцитов коркового вещества тимуса на ранних этапах стрес-

Таблица 3

Динамика содержания тканевых базофилов в мозговом веществе тимуса при облучении ИК лазером (абс.число/ед.площади, $M \pm m$)

Контроль	ИК лазерное облучение (сутки эксперимента)					
	1	3	7	15	21	30
$3,7 \pm 0,1$	$4,4 \pm 0,2^*$	$5,3 \pm 0,09^*$	$5,8 \pm 0,08^*$	$1,4 \pm 0,1^*$	$2,2 \pm 0,1^*$	$3,6 \pm 0,3$

Примечание: * – различия достоверны по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

са снижается, однако традиционная интерпретация этого явления, как следствия разрушения тимоцитов под действием выраженной концентрации кортизона, вряд ли соответствует действительности: количество клеточного детрита, обнаруженного в ткани тимуса в свободном либо захваченном макрофагами состоянии, явно не пропорционально масштабам явления. По мнению авторов [7], речь идет, скорее всего, о миграционных процессах и об уходе тимоцитов на другие территории. Мы в своей работе придерживаемся аналогичной точки зрения.

Известно, что взаимодействие созревающих лимфоцитов с ретикулоэпителиальными клетками служит условием процесса положительной селекции тимоцитов, их дифференцировки и миграции [3]. Описанная морфологическая картина тимуса при лазерном воздействии согласуется с имеющимися в литературе сведениями о стимулирующем влиянии ИК лазерного излучения на генетический аппарат лимфоидных клеток, а также выработку ретикулоэпителиальными клетками тимических гормонов (тимозина-Т α , тимулина) [6]. Принимая во внимание заметное увеличение частоты встречаемости фигур митоза в клетках лимфоидного ряда, бласты и большие лимфоциты, очевидно, представляют собой клетки, вышедшие в цикл под влиянием экзогенного стимула (НИЛИ). Это может быть связано с выработкой клеточными элементами тимуса ростовых факторов, в том числе тимозина, в ответ на воздействие ИК лазерным светом.

Эффект лазерного воздействия является обратимым: на 15-е сутки исследования отмечается восстановление клеточности тимуса, сопровождающееся угнетением процессов бласттрансформации и дифференцировки тимоцитов, что, по-видимому, обусловлено уменьшением активности ретикулоэпителиальных клеток в отношении продукции цитокинов и тимических гормонов спустя неделю после окончания сеансов облучения.

Весьма распространенным является мнение о пребывании тучных клеток исключительно в капсуле и соединительнотканых прослойках тимуса. Вместе с тем нами установлено, что на 3-и и 7-е сутки после начала облучения ИК лазером тучные клетки обнаруживаются также в субкапсулярной зоне долек тимуса (рис. 1). При этом имеют место тесные контакты

субкапсулярных тимоцитов и тканевых базофилов. В самих тучных клетках отмечаются явления гипертрофии и отчетливые морфологические признаки деградации. Эти результаты позволяют предположить, что проникновение тканевых базофилов в строму тимуса и их контакт с ретикулоэпителиальными клетками, наблюдаемые при воздействии низкоинтенсивного ИК лазерного излучения, являются важными факторами для стимуляции процессов пролиферации и дифференцировки тимоцитов.

Заключение.

1. Ежедневное транскутанное облучение экспериментальных животных низкоинтенсивным лазерным светом в течение 30 дней приводит к выраженным изменениям клеточного состава тимуса;

2. Изменение клеточного состава тимуса под влиянием инфракрасного лазерного излучения имеет определенную временную динамику: на 3-и сутки эксперимента клеточность тимуса уменьшается, отмечается миграция клеток из коркового вещества в мозговое, с 7-го по 15-й сеанс облучения содержание мозговых тимоцитов максимально увеличивается. К 30 сеансу происходит восстановление клеточности тимуса.

3. При курсовом инфракрасном лазерном облучении после начального повышения, снижается содержание тучных клеток в корковом веществе.

Библиографический список

1. Бернет, Ф. Клеточная иммунология / Ф. Бернет – М.: Мир, 1971. – 243 с.
2. Хавинсон, В.Х. Иммуномодулирующее действие факторов тимуса в патологии / В.Х. Хавинсон, В.Г. Морозов // Иммунология, 1984. – №5. – С. 28-31.
3. Ярилин, А.А. Тимус как орган эндокринной системы / А.А. Ярилин, И.М. Беляков // Иммунология, 1996. – №3. – С. 4-10.
4. Козлов, В.И. Лазеротерапия / В.И. Козлов, В.Н. Буйлин. – М.: Медицина, 1993. – 149 с.
5. Применение низкоинтенсивного лазерного излучения в качестве физического адаптогена при действии на организм стрессорных факторов / Г.Е. Брилли, Т.П. Романова, О.В. Прошина, Т.А. Беспалова – Саратов, 1998. – 123 с.
6. Роль цитокинов и других метаболических факторов в механизме инволюции тимуса / Е.П. Киселева, Р.П. Огурцова, А.Н. Суворов и др. – СПб., 2002. – 74 с.
7. Кузник, Б.И. Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма / Б.И. Кузник, Н.В. Васильев, Н.Н. Цыбиков – М.: Медицина, 1989. – 280 с.

УДК(312):611.08:611.121

Оригинальная статья

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СОСУДИСТОГО РУСЛА СЕРДЦА

А.А. Коробкеев – ГОУ ВПО Ставропольская государственная медицинская академия Росздрава, заведующий кафедрой нормальной анатомии, профессор, доктор медицинских наук; **О.Ю. Лежнина** – ГОУ ВПО Ставропольская государственная медицинская академия Росздрава, доцент кафедры нормальной анатомии, кандидат медицинских наук; **М.А. Басаков** – ГОУ ВПО Ставропольская государственная медицинская академия Росздрава, очный аспирант кафедры нормальной анатомии; **О.Н. Астахова** – ГОУ ВПО Ставропольская государственная медицинская академия Росздрава, очный аспирант кафедры нормальной анатомии; **И.И. Федько** – ГОУ ВПО Ставропольская государственная медицинская академия Росздрава, соискатель кафедры нормальной анатомии; **Н.В. Нейжмак** – ГОУ ВПО Ставропольская государственная медицинская академия Росздрава, очный аспирант кафедры нормальной анатомии.

CONTEMPORARY METHODS OF INVESTIGATION OF HEART BLOODSTREAM

A.A. Korobkeev – Stavropol State Medical University, Head of Department of Normal Human Anatomy, Professor, Doctor of Medical Science; **O.Yu. Lezhnina** – Stavropol State Medical University, Department of Normal Human Anatomy, Assistant Professor; **M.A. Basakov** – Stavropol State Medical University, Department of Normal Human Anatomy, Post-graduate; **O.N. Astakhova** – Stavropol State Medical University, Department of Normal Human Anatomy, Post-graduate; **I.I. Fedko** – Stavropol State Medical University, Department of Normal Human Anatomy, Post-graduate; **N.V. Neyzhmak** – Stavropol State Medical University, Department of Normal Human Anatomy, Post-graduate.

Дата поступления — 24.12.09 г.

Дата принятия в печать — 15.02.10 г.

А.А. Коробкеев, О.Ю. Лежнина, М.А. Басаков, О.Н. Астахова, И.И. Федько, Н.В. Нейжмак. Современные методы исследования сосудистого русла сердца. Саратовский научно-медицинский журнал, 2010, том 6, № 1, с. 26–28.