

## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ И ТИМУСА ПОД ВЛИЯНИЕМ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Изучалась гистоструктура тимуса и лимфатических узлов в условиях облучения экспериментальных животных ИК лазером. Было установлено, что лазерное излучение оказывает стимулирующее влияние на тимус и лимфатические узлы. В тимусе на 3 и 15 сутки усиливалась пролиферативная активность корковых тимоцитов. В лимфатических узлах нарастало содержание малодифференцированных клеточных форм и регистрировалась выраженная плазмацитарная реакция.

В настоящее время во многих экспериментальных и клинических исследованиях уделяется большое внимание изучению морфофункционального состояния органов иммунной системы при воздействии низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ). Анализ структурных перестроек в центральных и периферических органах иммуногенеза важен для понимания процессов, лежащих в основе модулирующего влияния НИЛИ на специфическую резистентность организма.

В практической медицине с неизменным успехом применяются различные виды терапевтических лазерных установок, и в частности устройства, излучающие в инфракрасном (ИК) диапазоне спектра (780-1200 нм). ИК излучение обладает хорошей проникающей способностью, оказывает выраженный биологический эффект на различные клеточные и тканевые образования и с успехом применяется для лечения многих заболеваний и патологических процессов (2, 5). Вместе с тем многие аспекты влияния ИК лазерного излучения на клеточные элементы и медиаторные механизмы иммунной системы до настоящего времени изучены недостаточно. Целью настоящей работы явилось изучение динамики морфологических изменений тимуса и лимфатических узлов под влиянием НИЛИ.

### Материал и методы исследований

В эксперименте использовали 52 шт. мышей-самцов массой 18-22 г, что по возрасту соответствует 2,5-3 месяцам. Животным после иммобилизации проводилось транскутанное облучение области проекции мезентериальных лимфатических узлов ежедневно в течение 10 дней терапевтическим лазерным аппаратом «Узор» (длина волны – 890 нм, импульсная частота – 1500 Гц, экспозиция – 128 с).

Плотность энергии излучения на поверхности кожи животного для частоты 1500 Гц составила  $12,6 \times 10^{-3}$  Дж/см<sup>2</sup>.

Контрольная группа включала в себя 10 мышей, которые подвергались ежедневной иммобилизации без последующего лазерного облучения.

Экспериментальные группы для каждого срока состояли из 7 животных. Материал для исследования (тимус и мезентериальные лимфатические узлы) забирали после декапитации животных под эфирным наркозом через 24 часа, на 3, 7 и 15, 21 и 30-е сутки от начала облучения. Животные взвешивались. Вычислялась относительная масса тимуса по формуле  $OMT = M/m \times 100\%$ , где  $M$  – масса мыши, а  $m$  – масса тимуса. Вычисление коркового – мозгового индекса (КМИ) проводилось с помощью стандартной квадратной и точечной сетками по формуле  $КМИ = N/n$ , где  $N$  и  $n$  количество точек, приходящихся соответственно на корковое и мозговое вещество тимуса (1).

Для гистологических и гистохимических исследований тимус и брыжеечные лимфатические узлы фиксировали в 7% нейтральном формалине. После стандартной гистологической проводки материал заливали в парафин. Серийные срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилин-эозином, толуидиновым синим, метиловым зеленым, пиронином, азур II-эозином. Клеточные элементы (малые, средние, большие лимфоциты, плазмоциты, тучные клетки, иммунобласты) в различных структурно-функциональных зонах мезентериальных лимфатических узлов считали в 10 полях зрения, при увеличении  $\times 400$ ,  $\times 600$ ,  $\times 900$  на условной единице площади 6400 мкм<sup>2</sup>. В тимусе определяли содержание малых, средних, больших корковых и мозговых тимоцитов. Подсчет тучных клеток и плазмоцитов производили в стромальном компоненте тимуса.

### Результаты и их обсуждение

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 сутки опыта. На 7-е (7 сеансов облучения) и 15-е (спустя 5 дней после окончания облучения) сутки

наблюдалось стойкое увеличение корково-мозгового индекса у животных опытной группы (таблица 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 лимфоцитопоеза в корковом веществе в 1-е и 3-и сутки наблюдения: количество малых лимфоцитов составило, соответственно,  $120,0 \pm 4,4$  и  $115,4 \pm 3,06$  (при  $144,6 \pm 3,1$  в контроле,  $p < 0,01$ ). Уменьшалась плотность расположения тимоцитов, что было наиболее заметно в субкапсулярной зоне, обнаруживались единичные тучные клетки с признаками дегрануляции. Угнетение сменялось выраженным усилением пролиферативной активности корковых тимоцитов на 7-е и 15-е сутки: число малых лимфоцитов составило, соответственно,  $149,4 \pm 2,5$  и  $154,1 \pm 3,6$  (при  $144,6 \pm 3,1$  в контроле,  $p < 0,01$  для второго показателя). Эта тенденция отчетливо проявлялась в наиболее репродуктивной подкапсулярной зоне тимуса. Клеточность в этой области увеличивалась, тканевые базофилы сохраняли нетипичную локализацию, оставаясь в субкапсулярной зоне. 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,  $p < 0,01$ ). В последующем показатели приближались к контролю на 21-е и 30-е сутки.

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 оставался существенно выше контрольного. Содержание тканевых базофилов увеличивалось спустя 24 ч. после облучения, нарастало на 3-и и 7-е сутки, однако выявлялось значительное снижение (ниже контрольного показателя) количества

этих клеточных форм к 15-м суткам эксперимента. Восстановление содержания тканевых базофилов происходило к 30-м суткам наблюдения (табл. 2).

При анализе кинетики клеточных популяций лимфатических узлов было установлено, что особенно активно реагировали на воздействие мало дифференцированные клеточные формы: иммунобласты в лимфоидных фолликулах (с 3-х по 15-е сутки), средние и большие лимфоциты в мозговых тяжах (табл. 3). В паракортикальной зоне иммунобласты обнаруживались с 1-х по 15-е сутки эксперимента, тогда как в контроле они отсутствовали. Содержание малых лимфоцитов в лимфоидных фолликулах коркового вещества лимфатических узлов увеличивалось и достоверно превышало контрольные показатели с 1-х по 7-е сутки облучения. Количество средних лимфоцитов в лимфоидных фолликулах увеличивалось по сравнению с контролем на 3-7-е сутки опыта ( $p < 0,05$ ); в паракортикальной зоне – с 1-х по 15-е сутки; в мозговых тяжах содержание этих клеточных форм оставалось высоким с 7-х по 21-е сутки наблюдения. Большие лимфоциты в лимфоидных фолликулах не выявлялись в контроле, однако их можно было обнаружить во все последующие сроки исследования. В мозговом веществе лимфоузлов количество больших лимфоцитов превышало контрольные значения с 3-х по 15-е сутки. Иммунобласты регистрировались во всех структурно-функциональных зонах лимфатических узлов уже через 24 часа после первого облучения, их количественные показатели достоверно отличались от контрольных до 15-х суток опыта. Усиление пролиферативной активности лимфоидных клеток выражалось в увеличении количества фигур митоза на единице площади как

Таблица 1. Значения корково-мозгового индекса в тимусе мышей после воздействия НИЛИ ( $M \pm m$ )

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

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

Таблица 2. Динамика содержания тканевых базофилов в тимусе при облучении ИК лазером

Контроль	ИК лазерное облучение (сутки эксперимента)					
	1	3	7	15	21	30
$3,7 \pm 0,1$	$4,4 \pm 0,2^*$	$5,3 \pm 0,09^*$	$5,8 \pm 0,08^*$	$1,4 \pm 0,1^*$	$2,2 \pm 0,11$	$3,6 \pm 0,3$

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

в лимфоидных фолликулах коркового вещества (с 1-х по 21 сутки), так и в мозговых тяжах (с 3-х по 21-е сутки наблюдения) в процессе эксперимента. Плазматизация в мозговых тяжах была наиболее выражена с 7-х по 21-е сутки ( $p < 0,001$ ). Тучные клетки регистрировались в мозговых тяжах, их количество достигало максимальных значений на 7-е и 15-е сутки ( $p < 0,001$ ) (Фото 2). Гистоморфология лимфатических узлов не отличалась от таковой у контрольных животных лишь к 30-м суткам наблюдения (спустя 20 дней после окончания облучения).

Таким образом, низкоинтенсивное ИК лазерное излучение оказывает выраженное иммуностимулирующее действие на клеточный состав паренхимы и стромы тимуса и мезентериальных лимфатических узлов экспериментальных животных.

Обнаруженное нами на 3-и сутки уменьшение клеточности тимуса может являться следствием активации под влиянием НИЛИ стресс реализующих систем и включения механизмов общего адаптационного синдрома (3). Возникающая при этом стимуляция структур гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы приводит к освобождению глюкокортикоидов, которые уменьшают количество тимоцитов в корковом веществе (4, 8, 9).

Известно, что взаимодействие созревающих лимфоцитов с ретикулоэпителиальными клетками

служит условием процесса положительной селекции тимоцитов, их дифференцировки и миграции (8, 9). 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 на выработку ретикулоэпителиальными клетками тимических гормонов (тимозина-Т $\alpha$ , 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 и тимозина в ответ на воздействие ИК лазерным светом.

Эффект лазерного воздействия является обратимым: на 15-е сутки исследования наблюдается 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 капсу-

Таблица 3. Изменения клеточного состава брыжеечных лимфатических узлов крыс под влиянием ИК лазерного излучения

Клетки	Зона	Контроль	1 сутки	3 сутки	7 сутки	15 сутки	21 сутки	30 сутки
Малые лимфоциты	ЛФ	64,2 ± 2,1	83,3 ± 1,7*	83,4 ± 1,3*	71,2 ± 1,2*	66,6 ± 1,5	62,3 ± 1,6	60,2 ± 1,0
	ПК	60,1 ± 1,2	72,4 ± 1,1*	77,2 ± 1,6*	66,2 ± 1,1*	70,2 ± 1,6*	61,2 ± 1,2	60,4 ± 1,4
	МТ	20,2 ± 1,3	20,8 ± 0,6	13,3 ± 0,2*	12,6 ± 0,1*	15,4 ± 0,3*	18,3 ± 1,0	18,2 ± 0,9
Средние лимфоциты	ЛФ	18,2 ± 0,4	17,1 ± 1,3	30,1 ± 2,1*	35,3 ± 1,0*	17,6 ± 0,1	16,6 ± 1,2	16,2 ± 1,1
	ПК	12,1 ± 1,1	15,4 ± 1,1*	19,2 ± 0,2*	26,6 ± 0,8*	17,5 ± 1,3*	15,3 ± 0,2	15,1 ± 0,9
	МТ	10,2 ± 1,7	12,1 ± 0,2	12,7 ± 1,1	22,3 ± 1,2*	22,8 ± 1,2*	15,4 ± 1,0*	13,2 ± 0,1
Большие лимфоциты	ЛФ	0	2,2 ± 0,7	3,61 ± 1,2	13,2 ± 0,1	8,2 ± 1,7	1,2 ± 0,2	0,5 ± 0,01
	ПК	0,75 ± 0,01	1,2 ± 0,04	1,2 ± 1,13	3,3 ± 0,2*	1,2 ± 0,3	0,75 ± 0,1	0,67 ± 0,4
	МТ	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	3,6 ± 1,2*	3,9 ± 0,15*	2,6 ± 0,2*	0,5 ± 0,6	0,3 ± 0,1
Иммуно-бласты	ЛФ	2,5 ± 0,01	4,8 ± 0,3*	8,2 ± 0,1*	10,4 ± 0,3*	6,6 ± 0,3*	3,1 ± 0,06	2,9 ± 0,01
	ПК	0	0,67 ± 0,1	2,65 ± 0,4	2,9 ± 0,1	2,28 ± 0,1	0,9 ± 0,01	0
	МТ	1,1 ± 0,03	3,5 ± 0,1*	4,8 ± 0,02*	5,2 ± 1,5*	5,1 ± 0,2*	1,3 ± 0,02	1,0 ± 0,01
Плазмоциты	ЛФ	0	0	0,3 ± 0,05	1,5 ± 0,3	0,9 ± 0,04	0,6 ± 0,01	0,1 ± 0,02
	ПК	0,71 ± 0,01	1,2 ± 0,03*	1,75 ± 0,6*	1,72 ± 0,2*	1,27 ± 0,1*	0	0
	МТ	15,3 ± 0,1	16,4 ± 1,3	16,7 ± 1,1	40,5 ± 1,2*	39,3 ± 1,1*	26,4 ± 0,4*	17,9 ± 1,2
Тучные клетки	ЛФ	0	0	0,9 ± 0,01	0,8 ± 0,7	0	0	0
	ПК	0	1,3 ± 0,3	0,9 ± 0,03	2,0 ± 0,6	0,9 ± 0,03	0,3 ± 0,01	0
	МТ	0,3 ± 0,01	1,2 ± 0,1*	1,3 ± 0,04*	3,4 ± 0,5*	2,3 ± 0,4*	1,4 ± 0,03*	0,1 ± 0,01
Фигуры митоза	ЛФ	0,2 ± 0,01	1,3 ± 0,2*	4,6 ± 0,07*	5,5 ± 0,7*	4,9 ± 0,24*	4,0 ± 0,3*	0,7 ± 0,1*
	ПК	0,8 ± 0,16	1,5 ± 0,12*	2,1 ± 0,16*	1,9 ± 0,1*	1,0 ± 0,01*	1,2 ± 0,03*	0,9 ± 0,2
	МТ	0,7 ± 0,01	0,95 ± 0,1	4,2 ± 0,2*	4,6 ± 1,3*	4,4 ± 0,17*	3,5 ± 0,1*	0,9 ± 0,1

Примечание: \* - наличие достоверности при уровне значимости  $P < 0,05$  (по сравнению с контролем). ЛФ – лимфоидные фолликулы; ПК – паракортикальная зона; МТ – мозговые тяжи.

ле и соединительнотканых прослойках тимуса. Вместе с тем установлено, что на 3 и 7 сутки облучения ИК лазером тучные клетки обнаруживаются также в субкапсулярной зоне долек тимуса (фото 1). При этом имеют место тесные контакты субкапсулярных тимоцитов и тканевых базофилов. В самих тучных клетках отмечаются явления гипертрофии и отчетливые морфологические признаки дегрануляции. Результаты наших исследований позволяют предположить, что проникновение тканевых базофилов в строму тимуса и их контакт с ретикулоэпителиальными клетками, наблюдаемые при воздействии низкоинтенсивного лазерного ИК излучения, являются важным фактором для стимуляции процессов пролиферации и дифференцировки тимоцитов.

Динамика малых, средних, больших лимфоцитов и иммунобластов в структурных зонах лимфатических узлов является морфологическим подтверждением активации процессов миграции, пролиферации и дифференцировки иммунокомпетен-

тных клеток. Известно, что стимуляция В-клеточного звена иммунитета выражается в плазмоцитарной реакции, характерной преимущественно для мозгового вещества лимфатических узлов (7). Нельзя исключить, что характерная морфокинетика лимфатических узлов под влиянием ИК лазерного излучения может быть связана с активацией продукции лимфоидными элементами интерлейкинов и в частности ИЛ1 с последующей дифференцировкой В-лимфоцитов и образованием эффекторных клеток гуморального звена иммунитета – плазмоцитов (7, 9).

Сопоставление временной динамики изменения численности тимоцитов и лимфоидных элементов лимфоузлов под влиянием НИЛИ свидетельствует о более быстром восстановлении клеточного состава и кортико-медуллярной структуры тимуса (на 15-е сутки наблюдения) по сравнению с восстановлением цитоархитектоники лимфатических узлов (30-е сутки).

**Список использованной литературы:**

1. Автандилов Г.Г. Окулярная измерительная сетка для цито-, гисто- и стереометрических исследований // Архив патологии. – 1972. – №6. – С. 76.
2. Байбеков И.М., Касымов А.Х., Козлов В.И. и др. Морфологические основы низкоинтенсивной лазеротерапии. – Ташкент: Изд-во Ибн Сины, 1991.
3. Бриль Г.Е., Романова Т. П., Прошина О.В., Беспалова Т.А. Применение низкоинтенсивного лазерного излучения в качестве физического адаптогена при действии на организм стрессорных факторов. – Саратов: Изд-во Саратов. мед. ун-та, 1998.
4. Киселева Е.П., Огурцова Р.П., Суворов А.Н., Гобрилович Д.И. Роль цитокинов и метаболических факторов в механизме инволюции тимуса. Цитокины и воспаление. СПб. 2002., С.72-74.
5. Козлов В.И., Буилин В.А., Самойлов В.Г., Марков И.И. Основы лазерной физио- и рефлексотерапии. – Самара-Киев, 1993.
6. Кончугова Т.В., Комарова Н.И., Шарова Н.И. и др. Экспериментальное исследование влияния инфракрасного низкоэнергетического лазерного излучения на выработку тимических гормонов // Иммунология. – 1995. – №3. – С. 34-36.
7. Сапин М.Р., Юрина Н.А., Этинген Л.Е. Лимфатический узел. – М.: Медицина, 1978.
8. Ярилин А.А., Беляков И.М. Тимус как орган эндокринной системы // Иммунология. – 1996. – №3. – С. 4-10.
9. Ярилин А.А. Основы иммунологии. – М.: Медицина, 1999.