

Результаты. Тучные клетки в тимусе имели гомогенный вид, отмечалась высокая насыщенность гранулами с хорошо различимым ядром, в основном мастоциты располагались в соединительно-тканых трабекулах органа. В контроле были отмечены единичные клетки в состоянии дегрануляции, в опытной группе наблюдалось усиление эозинофилии гранул мастоцитов, но без явлений тотальной дегрануляции. Спустя 24 часа после воздействия инфракрасным излучением на тимус отмечалось увеличение количества тучных клеток. В контрольной группе на 1 мм² приходилось 156 (97; 253) мастоцитов, а в опытной группе – 244 (136; 488), при $p = 0,0001$. Основной причиной изменения количества мастоцитов в тканях за пределами костного мозга является их миграция. Увеличение количества тучных клеток в тимусе после воздействия инфракрасного лазерного излучения связано с усилением синтеза в тканях белков теплового шока и ряда других специфических хемоаттрактантов для тучных клеток. Повышение количества мастоцитов в тимусе может влиять на локальную цитокиновую и ферментную активность других клеточных популяций, тонус микроциркуляторного сосудистого русла, проницаемость стенок капилляров, регулировать активность выхода тимоцитов различной степени дифференцировки в кровяное русло, что может менять картину иммунного гомеостаза в организме.

Заключение. Согласно полученным экспериментальным данным, инфракрасное лазерное воздействие на тимус приводит к увеличению количества тучных клеток в его ткани. Эти данные необходимо учитывать при проведении лазерной терапии в зоне локализации тимуса.

Плавский В.Ю.¹, Третьякова А.И.¹, Микулич А.В.¹, Сысов В.А.¹, Плавская Л.Г.¹, Дудинова О.Н.¹, Ананич Т.С.¹, Леусенко И.А.¹, Собчук А.Н.¹, Нагорный Р.К.¹, Сердюченко Н.С.¹, Дудчик Н.В.², Емельянова О.А.²

ПРОТИВОМИКРОБНОЕ ДЕЙСТВИЕ СИНЕГО СВЕТА

¹ Институт физики НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь;

² Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Беларусь

Plavskii V.Y., Tretyakova A.I., Mikulich A.V., Sysov V.A., Plavskaya L.G., Dudinova O.N., Ananich T.S., Leusenka I.A., Sobchuk A.N., Nahorny R.K., Serdyuchenko N.S., Dudchik N.V., Emel'yanova O.A. (Minsk, BELARUS)

ANTI-MICROBIAL EFFECTS OF THE BLUE LIGHT

Цель работы – выяснение механизма антимикробного действия синего света на тест-штаммы микроорганизмов из коллекции типовых культур, а также на клинически выделенные изоляты как в отсутствие экзогенных фотосенсибилизаторов, так и при сенсибилизации микроорганизмов куркумином – фотосенсибилизатором, обладающим выраженным противовирусным, противогрибковым и противопаразитарным действием. Кроме того, ставилась задача сравнить действие излучения одинаковых параметров на микробные клетки и клетки животных в культуре.

Материалы и методы. Исследования антимикробного действия света выполнены на грамм-отрицательных и грамм-положительных бактериальных клетках, а также на грибах в условиях *in vitro*, используя в качестве теста способность микроорганизмов образовывать колонии (колониеобразующие единицы, КОЕ). Для оценки вклада активных форм кислорода (АФК) в эффекты фотоинактивации микробных клеток и животных клеток в культуре использовались тушители АФК. Сравнение действия импульсного (длительность импульсов 10 нс) и непрерывного излучения проводили, используя лазеры, генерирующие излучение с длиной волны 405 нм.

Результаты. Выполненные исследования показали наличие во всех исследованных микроорганизмах присутствие эндогенных фотосенсибилизаторов порфиринового (копропорфирин, уропорфирин, протопорфирин) и флавинового (флавинаденин–динуклеотид, ФАД и флавиномононуклеотид, ФМН)

рядов, поглощающих излучение синей области спектра и сенсибилизирующих образование АФК (главным образом, синглетного кислорода) с квантовым выходом 0,77 для протопорфирина IX и 0,51 для ФМН. Показано, что фотовозбуждение указанных сенсибилизаторов при облучении микробных клеток оказывает бактерицидный эффект (выживаемость клеток снижается более чем на три порядка). При одинаковой средней плотности мощности эффект более выражен при воздействии импульсного лазера, что свидетельствует о важной роли амплитудного значения интенсивности излучения. Установлено, что для ряда микробных клеток фотоповреждение клеточной мембраны не играет существенной роли в реализации бактерицидного эффекта. Показано, что воздействие излучения синей области спектра способно также инактивировать клетки в культуре, однако степень их инактивации при одинаковой энергетической нагрузке менее выражена, чем при действии на микробные клетки. Определяющую роль в механизме фотоинактивации животных клеток синим светом играет перекись водорода: добавление к клеткам перед облучением пирувата натрия (известного тушителя H₂O₂) практически защищает их от фотодеструкции. Куркумин в концентрациях 1–5 мкМ способен сенсибилизировать повреждение как микробных клеток, так и животных клеток в культуре.

Заключение. Исследования, выполненные при финансовой поддержке БРФФИ (грант Ф21В-003), показали перспективность использования света синей области спектра для инактивации микробных клеток как за счет возбуждения эндогенных фотосенсибилизаторов, так и за счет экзогенного куркумина.

Плавский В.Ю., Третьякова А.И., Микулич А.В., Плавская Л.Г., Ананич Т.С., Дудинова О.Н., Леусенко И.А., Сысов В.А., Собчук А.Н., Сердюченко Н.С.

ФОТОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ РЕГУЛЯТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Институт физики НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь

Plavskii V.Y., Tretyakova A.I., Mikulich A.V., Plavskaya L.G., Ananich T.S., Dudinova O.N., Leusenka I.A., Sysov V.A., Sobchuk A.N., Serdyuchenko N.S. (Minsk, BELARUS)

PHOTOCHEMICAL MECHANISMS DETERMINING THE REGULATORY EFFECTS OF LASER IRRADIATION

Цель работы – выяснение механизма регуляторного действия низкоинтенсивного лазерного излучения и излучения светодиодных источников видимой области спектра на клеточном уровне. Интерес к данной проблеме продолжает оставаться высоким ввиду отсутствия значительного прогресса в понимании процессов, определяющих эффекты фотобиомодуляции. При этом в литературе появилось ряд данных, ставящих под сомнение возможную роль ксантиноксидазы в реализации регуляторного действия света. В этой связи наши исследования направлены на выявление молекул, способных при поглощении света влиять на метаболические процессы в клетке.

Материалы и методы. Исследования выполнялись на различных типах клеток: эукариот, прокариот, клетках крови (эритроцитах), сперматозоидах. При этом мы исходили из следующих предположений: а) в основе регуляторного действия света лежит изменение окислительно-восстановительного статуса клеток, инициируемое образованием активных форм кислорода (АФК) в результате возбуждения эндогенных фотосенсибилизаторов; б) фотосенсибилизаторами в клетке выступают флуоресцирующие соединения, обнаружить которые можно, используя чувствительные спектрофлуориметры и лазерное возбуждение. Для обнаружения указанных сенсибилизаторов нами разработана специальная методика, основанная на предварительной обработке перечисленных типов клеток 1 М соляной кислотой. Для обнаружения активных форм кислорода в клетках применялся очень чувствительный хемилюминесцентный метод.

Результаты. Выполненные исследования показали наличие во всех исследованных клетках присутствие эндогенных

фотосенсибилизаторов порфиринового (копропорфирин, уропорфирин, протопорфирин) и флавинового (флавионадин–динуклеотид, ФАД и флавиномононуклеотид, ФМН) рядов, поглощающих излучение видимой области спектра и сенсибилизирующих образование АФК (главным образом синглетного кислорода). Наиболее выраженное образование АФК наблюдается при воздействии излучения синей области спектра, соответствующей максимумам поглощения порфиринов (полоса Soret, 405–410 нм) и флавинов (445 нм). При добавлении к клеткам перед их облучением тушителя синглетного кислорода азид натрия, сигнал хемилюминесценции значительно снижается. Вместе с тем важную роль в изменении функциональной активности клеток в культуре играет перекись водорода: добавление тушителя перекиси (пирувата натрия) снижает фотобиологический эффект. Характерно, что зависимость выживаемости клеток животных от энергетической дозы представляет собой типичную двухфазовую кривую, описываемую известным законом Арндта–Шульца: при малых дозах живой организм отвечает на воздействие стимуляцией; по мере возрастания дозы стимулирующий эффект достигает максимума, затем сменяется угнетением, а при дальнейшем увеличении дозы – гибелью организма.

Заключение. Выполненные исследования позволили обнаружить во всех типах клеток присутствие флавиновых и порфириновых фотосенсибилизаторов в концентрации 0,005–0,01 мкМ, способных при фотовозбуждении генерировать АФК и изменять окислительно-восстановительный статус клеток. В зависимости от концентрации АФК воздействие света может приводить как к стимуляции клеточных процессов, так и к их угнетению, а также инициировать летальный исход.

Чесноков А.А.¹, Головнева Е.С.^{1,2}, Пешкова Д.А.¹

ИЗМЕНЕНИЕ ПЛОЩАДИ КРАСНОЙ И БЕЛОЙ ПУЛПЫ СЕЛЕЗЕНКИ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ТИМУС

¹ ГБУЗ «Многопрофильный центр лазерной медицины», г. Челябинск, Россия;

² ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск, Россия

*Chesnokov A.A., Golovneva E.S., Peshkova D.A.
(Chelyabinsk, RUSSIA)*

CHANGES IN THE AREA OF THE RED AND WHITE SPLEEN PULP AFTER LASER IRRADIATION OF THE THYMUS

Цель. На современном этапе развития науки накоплено достаточно данных, связанных с прямым действием лазерного излучения, в то время как исследование его опосредованного влияния остается в тени. Тимус и селезенка относятся к органам кроветворения и иммуногенеза, где тимус является центральным, а селезенка – периферическим. На данный момент нет четкого представления о влиянии лазера на взаимодействие

между центральным органом кроветворения – тимусом и периферическим – селезенкой. Целью нашего исследования является изучение состояния красной и белой пульпы селезенки после воздействия высокоинтенсивного лазерного излучения в терапевтическом режиме на тимус.

Материалы и методы. Исследование было проведено на 26 молодых половозрелых крысах – самцах массой 200–250 г. Животные были разделены на 2 группы: 1-я группа – без воздействия лазера и 2-я группа – с воздействием лазера на тимус. Лазерное воздействие осуществлялось с использованием диодного лазера «ИРЭ-Полус» (Россия), длина волны – 970 нм, доставка излучения через кварцевый световод, плотность мощности – 1 Вт/см², время воздействия – 1 минута, непрерывный режим. Фиксация осуществлялась в 10% нейтральном забуференном формалине. Проводка материала через изопропиловый спирт. Изготовление гистологических препаратов производилось стандартными методами. Для выявления структур красной и белой пульпы нами была использована обзорная окраска парафиновых срезов гематоксилином и эозином (Biovitrum, Россия). Гистологические препараты изучали на микроскопе LEICA DMRXA (Германия) с помощью цифровой видеокмеры LEICA DFC 290 (Германия), сопряженной с ПК. Для морфометрических исследований использовали программу анализа изображений ImageScore M (Россия, Москва). Статистический анализ производился методом Манна–Уитни, где $p < 0,05$.

Результаты. На сроке 1 сутки после воздействия инфракрасного лазерного излучения на тимус площадь белой пульпы селезенки в опытной группе животных достоверно увеличивалась по сравнению с контролем. Так, абсолютная площадь белой пульпы в контрольной группе была равна 892 000 (765 000; 990 000) мкм², а в опытной группе – 962 500 (823 000; 1 170 000) мкм². В это же время площадь красной пульпы в опытной группе снижалась до 818 500 (513 000; 1 190 000) мкм² по сравнению с контрольной группой – 956 000 (802 000; 1 400 000) мкм², при $p < 0,05$. Известно, что НИЛИ способно стимулировать секрецию тимических гормонов, которые в свою очередь влияют на пролиферацию, дифференцировку и расселение тимоцитов. В селезенке, как и в прочих периферических органах кроветворения и иммуногенеза, есть тимус – зависимые зоны, которые заселяются Т-лимфоцитами. Возможно, НИЛИ опосредованно индуцирует образование лимфобластов в Т-зависимых зонах селезенки и стимулирует пролиферацию Т-лимфоцитов в тимусе независимой зоне, что обуславливает увеличение площади белой пульпы в опытной группе.

Заключение. Исходя из полученных экспериментальных данных, можно сделать вывод о том, что НИЛИ, влияя на центральный орган кроветворения и иммуногенеза – тимус, способно оказывать косвенное влияние на периферические органы, в частности селезенку, вызывая увеличение площади белой пульпы и уменьшение площади красной пульпы.