

## ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА РЕТРОГРАДНУЮ ДЕГЕНЕРАЦИЮ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН

А.В. Сидоров.

(Иркутский государственный медицинский университет)

Низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) находит широкое применение в различных сферах медицинской практики. В частности, показано наличие терапевтического эффекта НИЛИ при воспалительных и дегенеративно-дистрофических процессах, а также системных нарушениях в организме.

Между тем механизмы терапевтического эффекта НИЛИ остаются мало изученными. Определенный интерес представляют данные, согласно которым НИЛИ оказывает благотворное действие на рост аксонов нервной клетки, что приводит к значительному сокращению времени реиннервации органа.

Естественно, возникает вопрос об ультраструктурных механизмах такого ускоренного восстановительного роста нервного волокна. В связи с этим цель настоящего исследования состояла в анализе морфологических особенностей седлишного нерва в норме, при дегенеративных процессах и при действии НИЛИ на структуры нервных волокон седлишного нерва в условиях его ретроградной дегенерации.

### Материалы и методы

Опыты проведены на 32 беспородных белых крысах. После эпизиплации конечности на уровне верхней трети бедра производили разрез кожи, рассекали подлежащие мышцы, освобождали седлишный нерв от соединительной ткани и перерезали его. Участок, расположенный непосредственно выше места перерезки подвергали воздействию лазера. В качестве контроля использовалась другая конечность животного, где моделировались те же условия за исключением воздействия НИЛИ.

В экспериментах был использован гелий-неоновый лазер ЛГН-109 с плотностью мощности  $100 \text{ мВт/см}^2$ , что составляло при одном импульсе  $0,5 \text{ Дж/см}^2$ . Время воздействия варьировалось от 30 минут до 3-х часов. Воздействие производилось в строго определенном участке с площадью пятна  $2 \text{ см}^2$ .

Подготовка материала для электронной микроскопии проводилась по традиционной методике. Подготовленные образцы исследовались при помощи просвечивающих электронных микроскопов ПЭМ-100 и ЭВМ-100ЛМ.

Во всех сериях эксперимента проводилось определение макро- и ультраструктурных характеристик аксонов в контроле и при действии НИЛИ. Дополнительно, для оценки степени сохранности дегенерирующих аксонов, определяли отношение площади аксоплазмы к площади свободных от нее

участков. Исследовано по 24 аксона в каждой серии опытов.

### Результаты и обсуждение

С помощью вышеперечисленных методов было показано, что седлишный нерв крысы состоит из 10000-12000 преимущественно миелинизированных аксонов, находящихся в нескольких нервных пучках. Средний диаметр аксонов равен 6 мкм. На ультраструктурном уровне видно, что отдельное нервное волокно снаружи окружено плотным кольцом миелина. Миелин включает примерно от 50 до 100 слоев. Собственная оболочка аксона в норме плотно прилегает к плазматической мембране шванновской клетки на всем протяжении интернодальных участков волокна. В аксоплазме, имеющей электронную плотность приблизительно в 3-4 раза ниже, чем у миелиновой оболочки, располагаются нейрофиламенты, микротрубочки, митохондрии и транспортные везикулы, что свойственно для данного морфофункционального отдела нервной клетки.

Как показали наши исследования, после перерезки нервного волокна степень ретроградной дегенерации с течением времени увеличивается по нескольким критериям. Дегенеративные процессы проявляются как на уровне миелиновой оболочки, так и на уровне аксоплазмы. Деструкция миелина проявляется в отщеплении его слоев друг от друга, миелин деформируется и его дальнейшие перестройки во многом определяются состоянием аксоплазмы, дегенерация которой выражается в ретракции и постепенном отслоении от миелиновой оболочки. Этот процесс, как прослежено нами, первоначально наблюдается в одном участке нервного волокна. В дальнейшем отслоение аксоплазмы происходит в двух и более секторах аксона. Процесс приобретает генерализованный характер, обнаружено, что в образующуюся полость погружается соответствующий участок миелиновой оболочки. В качестве наиболее характерных изменений внутриаксональных структур можно отметить нарушение ориентации нейрофиламентов и микротрубочек, фрагментацию или полное исчезновение последних.

При сравнении ультраструктурных особенностей аксонов контроля и аксонов подвергавшихся воздействию НИЛИ выяснилось, что они имеют определенные различия. Показано, что при действии лазерного излучения достоверно уменьшается количество профилей аксонов с нарушением целостности миелиновой оболочки, а также случаев отслоения аксоплазмы. Отношение площади аксоплазмы к площади свободных от нее участков в



контроле составляет 13,8, а при стимуляции такое соотношение равно 23 (23,14). Таким образом данный суммарный показатель свидетельствует о меньших дегенеративных изменениях аксона, и некоторой стабилизации его структур после перерезки в условиях действия НИЛИ.

В результате анализа воздействия НИЛИ на ультраструктуру центрального отрезка седалищного нерва крысы в условиях ретроградной дегенерации, можно сделать вывод о том, что НИЛИ оказывает стабилизирующее влияние на дегене-

рирующий участок нерва расположенный выше места перерезки. Это сопровождается поддержанием нативной структуры миелиновой оболочки и сохранением объема аксоплазмы нервных волокон. Целостность этих двух основных морфофункциональных отделов нервной клетки несомненно определит высокую скорость репаративной регенерации аксонов, что и лежит в основе значительного сокращения времени реиннервации органа.

© ВОРОПАЕВ А.В., ШУРЫГИНА И.А., КЛИМОВ В.Т., ЧЕСНОКОВА М.В., МАРАМОВИЧ А.С., МАЛОВ И.В., КИРДЕЙ Е.Г. –  
УДК 576.8.097.29:616-002.71

## ВЛИЯНИЕ *Yersinia pseudotuberculosis* НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ

А.В. Ворopaев, И.А. Шурыгина, В.Т. Климов, М.В. Чеснокова,  
А.С. Марамович, И.В. Малов, Е.Г. Кирдей.

(Иркутский государственный медицинский университет, Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока)

*Y.pseudotuberculosis* обладает большим набором факторов патогенности, кодируемых как хромосомальными генами возбудителя, так и плазмидами. У *Y.pseudotuberculosis* обнаружено 11 типов плазмид, однако достаточно хорошо к настоящему времени изучена лишь плазида вирулентности с молекулярной массой 47 MD, функция же остальных плазмид до сих пор остается недостаточно ясной.

Цель исследования заключалась в определении влияния *Y.pseudotuberculosis* на выработку цитокинов клетками крови *in vivo* и *in vitro*.

### Материалы и методы

Определяли уровни интерлейкина-1 (ИЛ-1), интерлейкина-2 (ИЛ-2), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерферона-α (ИФН-α) и фактора некроза опухоли-α (ФНО-α) в сыворотке крови больных при вспышечной заболеваемости псевдотуберкулезом, вызванной *Y. pseudotuberculosis* с плазмидами 47 и 82 MD. Обследовано 19 больных, все мужчины, средний возраст 18,8 лет и *Y.pseudotuberculosis* с плазмидой 47 MD (обследовано 22 человека, из них мужчин 12 (55%), средний возраст 12,7 лет). У всех больных кровь была взята на первой неделе заболевания, а у первой группы в динамике (1 и 3 неделя). В качестве группы сравнения об-

следована группа из 20 доноров в возрасте 19-22 лет, в среднем 18,4 года.

Культуру клеток цельной крови доноров *in vitro* инкубировали с одно- (47 MD) и двухплазмидными (47 и 82 MD) штаммами *Y.pseudotuberculosis* (106 живых микробных клеток в 1 мл крови), определяли уровень продукции цитокинов при 24 часовой инкубации. Контролем служила оценка уровня цитокинов при инкубации клеток крови с липополисахаридом (ЛПС) *Y.pseudotuberculosis* в концентрации 5мкг/мл. Уровень иммуноцитокинов определяли иммуноферментным методом с использованием коммерческих тест систем. Статистический анализ полученных данных проводили при помощи парного критерия Т (больные и сравнение с донорами) и методом множественных сравнений (критерий Стьюдента с поправкой Бонферони в эксперименте). Вычисления производили, используя компьютерную программу Biostat.

### Результаты и обсуждение

*Y.pseudotuberculosis* значительно снижает выработку иммуноцитокинов у больных псевдотуберкулезом (табл.1). Причем низким уровень продукции цитокинов остается и на третьей неделе заболевания, немного повышаясь у ИЛ-1, ИЛ-2, ИФН-α

Таблица 1.

Продукция цитокинов у больных

| Сроки исследований         | Изменение показателей цитокинов |                          |                          |                         |                          |
|----------------------------|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|
|                            | ИЛ-1                            | ИЛ-2                     | ИЛ-6                     | ИФН-α                   | ФНО-α                    |
| Доноры (контроль), М±m     | 56,0±6,7                        | 37,4±4,6                 | 58,3±6,2                 | 14,1±1,6                | 43,7±4,9                 |
| <i>Y. pst</i> (47 MD), М±m | 14,2 <sup>a,b</sup> ±2,0        | 28,9 <sup>a,b</sup> ±3,7 | 29,1 <sup>a,b</sup> ±3,4 | 2,7 <sup>a,b</sup> ±0,3 | 27,0 <sup>a,b</sup> ±3,1 |
| (82:47) I неделя, М±m      | 12,6 <sup>a,b</sup> ±1,4        | 28,1 <sup>a,b</sup> ±3,2 | 31,7 <sup>a,b</sup> ±4,0 | 2,3 <sup>a,b</sup> ±0,3 | 26,6 <sup>a,b</sup> ±3,1 |
| (82:47) 3 неделя, Δ±m      | 3,5 <sup>c</sup> ±0,4           | 4,5 <sup>c</sup> ±0,5    | -6,4 <sup>c</sup> ±0,8   | 2, <sup>c</sup> ±0,2    | 0,4±0,0                  |

Примечание: указана средняя и ее ошибка, буквами обозначена значимость различий по сравнению с группой доноров (a – P<0,05), штаммов между собой (b – P<0,05) и в динамике для второй группы больных среднее разницы и ее ошибка (c – P<0,05).