Изменение гистологической структуры тимуса овец в возрастном аспекте при использовании биофизических методов

Changes in the histological structure of the sheep thymus in the age aspect when using biophysical methods

Селионова М.И.

г. Ставрополь

DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-1-10
УДК 636.32/.38:611.018:636:612.438

Ключевые слова: тимус, низкоинтенсивное лазерное излучение, овцы, Т-лимфоциты

Key words: thymus, low-intensity laser radiation, sheep, T lymphocytes.

Резюме. Овцеводство важная отрасль мирового продуктивного животноводства. Существенное значение имеет полное использование биологических возможностей животных, в том числе овец для производства различных видов овцеводческой продукции. В настоящее время в отрасли овцеводства основное внимание направлено на увеличение мясной продуктивности и улучшение качества продукции. Поэтому особую актуальность приобретает проблема выращивания здоровых, жизнеспособных животных, повышения их продуктивности и получения высококачественной экологически чистой продукции [Коник Н.В., 2010; Дейкин А.В., Селионова М.И. и др. 2016; Селионова М.И., Бобрышова Г.Т., 2016; Омаров А.А., 2016]. Определенный интерес в животноводстве приобретает использование биофизических методов. Особый интерес представляет действие на биологические объекты лазерного излучения низких интенсивностей. Известно его стимулирующее влияние на многие физиологические процессы в организме как животных, так и растений. Лазерные технологии, применяемые в животноводстве в ранний период индивидуального развития организма для реализации генетически заложенных продуктивных качеств, наиболее эффективны, и проявляется это в первую очередь в многократном усилении иммунной системы, оказывающей влияние на повышение продуктивности [Талалаев С.А., Квитко Ю.Д. и др. 2008;

Afanasev M.A. et al., 2018]. Тимусу принадлежит центральное место в формировании и поддержании полноценного функционирования системы иммуногенеза. Вышеизложенное послужило основанием к изучению влияния низкоинтенсивного лазерного излучения ближнего инфракрасного спектра на организм молодняка овец. Целью исследования явилось изучение структурных особенностей тимуса у овец в разные возрастные периоды при воздействии лазерного излучения. При микроскопическом исследовании цитоархитектуры тимуса овец в возрасте 5 и 7 месяцев после воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения на биологически активную точку, расположенную на уровне первого грудного позвонка, отвечающую за иннервацию тимуса выявлено, что в тимусе имеются морфофункциональные резервы для терминальной дифференцировки и селекции Т-лимфоцитов.

Summary. Sheep breeding is an important branch of the world's productive livestock production. Full use of the biological capabilities of animals, including sheep for the production of various types of sheep products, is essential. Currently, the sheep breeding branch focuses on increasing meat productivity and improving product quality. Therefore, the problem of rearing healthy, viable animals, increasing their productivity and obtaining high-quality environmentally friendly products is of particular urgency [Konik N.V., 2010; Deikin A.V., Selionova M.I. et al. 2016; Selionova M.I., Bobryshova G.T., 2016; Omarov A.A., 2016]. The use of biophysical methods is acquiring a certain interest in animal husbandry. Of particular interest is the effect on biological objects of low intensity laser radiation. Its stimulating effect on many physiological processes in the body of both animals and plants is known. Laser technologies used in animal husbandry in the early period of individual development of the organism for the implementation of genetically incorporated productive qualities are most effective, and this is manifested primarily in the multiple enhancement of the immune system, which influences the increase in productivity [Talalaev S.A., Kvitko Yu. D. et al. 2008; Afanasyev M.A. et al., 2018]. Thymus has a central place in the formation and maintenance of the full functioning of the immunogenesis system. The foregoing has led to the study of the effect of low-intensity laser radiation from the near-infrared spectrum on the body of young sheep. The aim of the research was to study the structural features of the thymus in sheep at different age periods when exposed to laser radiation. Microscopic examination of cytoarchitecture of sheep thymus at the age of 5 and 7 months after exposure to low-intensity laser radiation on a biologically active point located at the level of the first thoracic vertebra responsible for the innervation of the thymus revealed that there are morphofunctional reserves for terminal differentiation and selection of T-lymphocytes.

Актуальность темы

В настоящее время существенное внимание уделяется влиянию различных биофизических факторов на важнейшие адаптивные системы организма, что обеспечивает восстановление функциональных резервов, сниженных в результате заболеваний или стрессорных воздействий. Одним из перспективных методов стимулирования продуктивности, повышения резистентности животных, можно счи-

Авторы / Authors

¹Селионова М.И., доктор биологических наук, профессор РАН, директор e-mail: m_selin@mail.ru

¹Афанасьев М.А., соискатель отдела овцеводства, e-mail: ssau_physics@mail.ru

¹Скорых Л.Н., доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела овцеводства, e-mail: smu.snizhk@yandex.ru

²Дилекова О.В., доктор биологических наук, доцент, заведующая кафедрой паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии им. профессора С.Н. Никольского, e-mail: dilekova2009@yandex.ru

¹Коваленко Д.В., кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела овцеводства, e-mail: dmitriy-v26@mail.ru

²Сергиенко А.С., студент 4 курса электроэнергетического факультета

¹ВНИИОК - филиала ФГБНУ "Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр", г. Ставрополь

²ФГБОУ ВО "Ставропольский государственный аграрный университет", г. Ставрополь

Selionova M.I., Afanasyev M.A., Skorykh L.N., Dilekova O.V., Kovalenko D.V., Sergienko A.S.

тать инфракрасное низкоинтенсивное лазерное излучение [Саркисян А.П., 2000; Самodelкин А.Г. и др. 2014].

Зарубежными и отечественными исследователями установлено положительное влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на биологические процессы. Выявлено стимулирующее воздействие низкоинтенсивного излучения на клеточные процессы и эмбриональное развитие растений и животных [Л.Ф. Скрылева и др. 2014; Perazzi A. et al. 2015]. Из литературных источников известно, что воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения на организм обладает иммуностимулирующим действием [Ас-ташов В.В. и др. 2017].

Поскольку тимус является центральным органом иммунной системы, основная роль которого дифференцировка и клонирование Т-лимфоцитов, выработка гормонов, то определенный интерес представляет изучение морфологических особенностей тимуса у овец при воздействии лазерного излучения в красной части спектра.

Материал и методы исследований

Объектом исследования являлся молодой, полученный от разведения "в себе" полукровных баранов и маток генотипа (полл дорсет х северокавказская мясо-шерстная) в возрасте 5 и 7 месяцев. Исследования выполнены в условиях пос. Цимлянский (опытная станция ВНИИОК, Шпаковский район, Ставропольский край). В связи с этим в

период ягнения овцематок были сформированы три группы ягнят (баранчики): I группа (n=20) – контрольная, без применения лазерного излучения; II группа (n=21) – ягнята, полученные от овцематок без применения лазерного излучения, обрабатывались двукратно (на 15 и 20 сутки); III группа (n=24) – ягнята, полученные от овцематок с применением лазерного излучения, дополнительно обрабатывались двукратно (на 15 и 20 сутки). В эксперименте были задействованы клинически здоровые животные.

Облучение проводили с помощью лазерного аппарата, действие которого основано на применении низкоинтенсивного лазерного излучения (импульсного) ближней инфракрасной области спектра.

У ягнят воздействие лазерным излучением осуществляли на биологически активную точку, расположенную на уровне первого грудного позвонка, отвечающую за иннервацию тимуса (продолжительность экспозиции на область составляла 1,5 минуты).

Убой животных для гистологических исследований проводили в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях.

Материалом для работы послужил тимус, который фиксировали в 10 % нейтральном забуференном формалине (БиоВитрум, Россия). После фиксации органа вырезали

кусочки размером 1 см³, которые проводили через спирты возрастающей концентрации и ксилол, после чего заливали в гистологическую среду "Гистомикс" (БиоВитрум, Россия), с использованием гистологического процессора замкнутого типа Tissue-Tek VIP™ 5 Jr и станции парафиновой заливки Tissue-Tek® TEC™ 5 (Sakura, Япония). Из полученных блоков делали гистологические срезы толщиной 5 – 7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином (Bio-Optica, Италия) на автоматическом мультитейпере Prisma™ (Sakura, Япония). Микроскопию гистологических препаратов проводили на цифровом микроскопе Olympus BX45 со встроенным фотоаппаратом C 300 (Япония). Для микроскопии были использованы окуляры x10, объективы x4, x10, x20, x40, x100.

Результаты исследований и их обсуждение

У ягнят контрольной группы без применения лазерного излучения в 5-месячном возрасте при микроскопическом исследовании тимуса выявлено активное разрастание белой жировой ткани в строме и паренхиме органа, что является характерной чертой жировой инволюции тимуса. Однако дольчатое строение тимуса сохранено, дольки полигональной формы рисунок коркового и мозгового вещества в них слабо выражен. Отмечается частичный склероз коркового вещества. Мозговое вещество долек разряжено, тимоциты расположены в нем диффузно, без определенного рисунка строения. Между тимоцитами локализованы веретеновидные слабо отростчатые опорные ретикулоэпителиальные клетки, а также единичные тимусные тельца в количестве от 1 до 2, состоящие из центрально расположенной шаровидной ретикулоэпителиальной клетки, вокруг которой концентрически наложены в виде пластинок ороговевшие ретикулоэпи-

Рисунок 1. А – Разрастание белой жировой ткани. Ув. $\times 40$; Б – Мозговое вещество тимуса. Ув. $\times 1000$. Контрольная группа. Ягнята 5 месяцев. Окраска гематоксилином и эозином.

Рисунок 2. А – Долька тимуса грудной доли. Ув. $\times 100$; Б – Тимусное тельце III типа. Ув. $\times 1000$. Контрольная группа. Ягнята 7 месяцев. Окраска гематоксилином и эозином.

Рисунок 3. А – Паренхима тимуса. Ув. $\times 100$; Б – Цитотретикулюм мозгового вещества. Ув. $\times 400$. II группа. Ягнята 5 месяцев. Окраска гематоксилином и эозином.

телиальные клетки. В некоторых зонах мозгового вещества встречаются тимусные тельца в виде мономорфных слоистых образований (рисунок 1).

У ягнят контрольной группы в возрасте 7 месяцев при макроскопическом исследовании выявлено, что шейная часть тимуса подверглась глубокой инволюции с образованием жирового тела. Грудная доля тимуса располагалась впереди сердца. Поэтому микроскопическому описанию была подвергнута грудная доля тимуса, в которой регистрируются единичные дольки паренхимы содержащие скопления белой жировой ткани. Строма органа на стадии жировой атрофии. В корковом веществе долек отмечаются процессы опустошения посредством выселения тимоцитов в строму и образованию из них инфильтрата корковых тимоцитов. В мозговом веществе наблюдается увеличение количества тимусных телец до 5–7, которые подразделяются на 3 типа: I тип – ретикулоэпителиальные клетки расположенные отдельно друг от друга. Между и вокруг них локализованы группы мозговых тимоцитов. Локализуется данный тип телец в кортикомедуллярной зоне; II тип – классические слоистые образования с концентрически наслоенными пластинками ороговевших ретикулоэпителиальных клеток; III тип – группа ретикулоэпителиальных клеток в количестве от 7 до 9 расположенных друг за другом или в виде скопле-

ний. При этом во всех клетках визуализируются ядра, некоторые из которых находятся на стадии регрессии в виде кариопикноза. II и III тип тимусных телец локализируются в центре мозгового вещества (рисунок 2).

У ягнят II группы обработанных двукратно (на 15 и 20 сутки) и полученных от овцематок без применения лазерного излучения в возрасте 5 месяцев при микроскопическом исследовании паренхима тимуса без признаков жировой инволюции. Однако в трабекулах регистрируются очаги белой жировой ткани состоящие из 5 – 6 адипоцитов. В дольках четко выражены корковое и мозговое вещество. Корковое вещество обильно заселено тимоцитами, располагающимися параллельными цепочками. Между тимоцитами повсеместно визуализируются макрофаги. В мозговом веществе отчетливо просматривается циторетикулум, с рециклирующими тимоцитами. Количество тимусных телец составляет от 5 до 7. Наиболее распространены тельца I типа (рисунок 3).

В возрасте 7 месяцев у ягнят II группы при микроскопическом исследовании отмечается, что паренхима тимуса в состоянии глубокой жировой инволюции, однако имеются единичные тонкие лентовидные дольки. Капсула органа в состоянии деструкции волокнистого компонента с увеличением аморфного вещества. В паренхиме долек регистриру-

ется разрастание вокруг кровеносных сосудов в виде муфт соединительной ткани, что приводит к сужению просвета сосудов, а в некоторых случаях и к полному склерозу. Тимоциты визуализируются в свободном состоянии между белыми адипоцитами в виде длинных цепочек. В некоторых зонах регистрируется их выселение в сосуды микроциркуляторного русла. Тимусные тельца в сохранившихся дольках представлены в основном I типом в количестве от 3 до 5, тельца III типа единичные, II типа отсутствуют (рисунок 4).

При микроскопическом исследовании тимуса у ягнят (III группа), полученных от овцематок с применением лазерного излучения и дополнительно обработанных двукратно (на 15 и 20 сутки) в возрасте 5 месяцев регистрируются процессы развития жировой инволюции тимуса, проявляющиеся появлением островков белой жировой ткани в строме органа. Паренхима коркового и мозгового вещества долек плотно заселена тимоцитами и макрофагами. Количество тимусных телец I типа насчитывается от 7 до 10, II и III типа тимусные тельца единичные, локализованы в кортикомедуллярной зоне (рисунок 5).

В возрасте 7 месяцев у ягнят III группы отмечается глубокая жировая инволюция тимуса, вплоть до тотальной жировой атрофии долек. Капсула органа сращена с подлежащей жировой тканью, строма в состоянии дезорганизации волокнистого компонента особенно в зоне локализации кровеносных сосудов. Тимоциты как с коркового, так и с мозгового вещества выселяются в виде клеточных дорожек между белыми адипоцитами в кровеносные сосуды. Циторетикулум мозгового вещества в состоянии жировой дистрофии. Микроциркуляторное русло резко выражено в состоянии стаза крови со сладжированными эритроцитами, регистрируются множественные

Рисунок 4. А – Глубокая инволюция тимуса. «Жировые тени» долек. Ув. $\times 40$; Б – Разрастание соединительной ткани в дольках. Ув. $\times 100$. II группа. Ягнята 7 месяцев. Окраска гематоксилином и эозином.

Рисунок 5. А – Заселение стромы белой жировой тканью. Ув. $\times 100$; Б – Тимусные тельца I типа в кортикомедуллярной зоне. Ув. $\times 200$. III группа. Ягнята 5 месяцев. Окраска гематоксилином и эозином.

Рисунок 6. А – Глубокая жировая инволюция тимуса. Ув. $\times 40$; Б – Мозговое вещество. Сладжирование эритроцитов. Ув. $\times 1000$. III группа. Ягнята 7 месяцев. Окраска гематоксилином и эозином.

диапедезные кровоизлияния. Тимусные тельца единичные, представлены в основном III типом с процессами вакуолизации ретикулоэпителиальных клеток. В кортикомедуллярной зоне локализованы одиночные тимусные тельца I типа (рисунок 6).

Заключение

Проведенные микроскопические исследования тимуса свидетельствуют, что у ягнят всех изучаемых групп выявлены в основном одинаковые процессы, происходящие в тимусе на клеточно-тканевом уровне. Установлено, что этапы возрастной акцедентальной инволюции тимуса наступают у животных в 5-месячном возрасте, но если у контрольной группы жировая инволюция органа протекает более интенсивно, что проявляется тотальной атрофией шейной части органа к 7-месячному возрасту, то у опытных групп данный процесс начинается только в 7-месячном возрасте. Кроме того, признаками активной инволюции являются не дифференцированные тимусные тельца на разных стадиях дистрофии и некробиоза.

Таким образом, по нашему мнению, в тимусе имеются морфофункциональные резервы для продолжительной его работы и антигеннезависимой дифференцировки тимоцитов, однако процессы генетической программы паттерна развития тимуса в организме невозможно остановить.

Литература

1. Асташов В.В., Козлов В.И., Бородин Ю.И., Анцырева Ю.А., Зайко О.А. Структура тимуса при воздействии чрескожного лазерного облучения крови с различной длиной волны // Морфология. 2017. Т. 151. № 3. С. 22-27.
2. Саркисян А.П. Влияние различных режимов облучения гелиево-

неоновым лазером на морфологический состав периферической крови и костного мозга животных // Актуальные вопросы оздоровления внешней среды и здоровья человека. / Л., 2000. С. 60-61.

3. Самоделькин А.Г., Иващенко М.Н., Куимов И.А. Влияние неинвазивного способа лазерного облучения крови на гематологические показатели у молодняка лисиц в период адаптации организма после отъема // Современные проблемы науки и образования. 2014. № 6. С. 1442.

4. Л.Ф. Скрылева, М.А. Микляева, А.Г. Анисимов, Р.А. Дегтярева, А.С. Микляева, А.С. Родимцев Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на успешность инкубации яиц сельскохозяйственных птиц // Вестник ТГУ, т.19, вып.5, 2014 С. 1466-1469

5. Дейкин А.В., Селионова М.И., Криворучко А.Ю., Коваленко Д.В., Трухачев В.И. Генетические маркеры в мясном овцеводстве // Вавиловский журнал генетики и селекции. - 2016. - Т. 20. - № 5. - С. 576-583.

6. Селионова М.И., Бобрышова Г.Т. Овцеводство Ставропольского края, настоящее и будущее / М.И. Селионова, // Овцы, козы, шерстяное дело. - 2016. - № 1. - С. 4-7.

7. Коник Н.В. Пути повышения продуктивности овец ставропольской породы // Аграрная наука. - 2010. - № 10. - С. 26-30.

8. Омаров А.А. Мясная продуктивность молодняка овец при разном уровне кормления / А.А. Омаров // Овцы, козы, шерстяное дело. - 2016. - № 2. - С. 39-40.

9. Талалаев С.А. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на откормочные и убойные качества валушков северокавказской породы / С.А. Талалаев, Ю.Д. Квитко, Л.Н. Скорых // Овцы, козы, шерстяное дело. - 2008. - № 4. - С. 50-51.

10. Afanasev M.A., Skorykh L.N., Kovalenko D.V., Sergienko A.S., Fursov D.I. Studying meat productivity and morphological indicators of sheep by biophysical methods // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2018. Т. 9. № 3. С. 713-717.

11. Perazzi A., Patruno M., Martinello T., Glazar M., Iacopetti I. Effect of MLS Laser Therapy for the treatment of experimentally induced acute tendinopathy in sheep - a preliminary study. Energy for Health, 2015: 14: 4-7.