

6. Машеро, В. А. Этиологическая структура возбудителей респираторных и желудочно-кишечных инфекций телят в Республике Беларусь / В. А. Машеро, П. А. Красочко // Ученые записки: научно-практический журнал / УО ВГАВМ: сб. науч. трудов. – Витебск, 2007. – Т. 43, вып. 2. – С. 83-86.
7. Выращивание и болезни молодняка: практическое пособие / А. И. Ятусевич [и др.]; под общ. ред. А. И. Ятусевича [и др.] М-во сел. хоз-ва и продовольствия Респ. Беларусь, Учреждение образования «Витеб. гос. акад. ветеринар. Медицины». – Витебск: ВГАВМ, 2012. – 814 с.

УДК 619:615.8:612.017

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ
ЖИВОТНЫХ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО
ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ (НИЛИ)**

**И. В. Кулеш¹, В. В. Малашко¹, А. Н. Петушок¹, В. Т. Бозер¹,
Д. В. Малашко²**

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

(Республика Беларусь, 230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by);

² – УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»

г. Горки, Республика Беларусь

(Республика Беларусь, 213410, г. Горки, ул. Мичурина, 10)

Ключевые слова: апоптоз, иммунитет, иммуноглобулины, кровь, лазер, лимфатические узлы, пищеварительная система, телята, ферменты.

Аннотация. Под влиянием НИЛИ отмечается более активное формирование лимфатических узелков с хорошо выраженными светлыми центрами. Содержание узелков со светлыми центрами в опыте увеличивается на 12,5%. Об усилении иммунологической активности лимфатических узлов свидетельствует повышение площади коркового вещества, интенсивное развитие фолликулов и светлых центров, увеличение числа бластных формами плазмоцитов и активизация микроциркуляции.

ORGANISM IMMUNOLOGICAL CHANGES DUE TO LOW LEVEL LASER THERAPY (LLLT)

I. V. Kulesh¹, V. V. Malashko¹, A. N. Petushok¹, V. T. Bozer¹,
D. V. Malashko²

¹ – EI «Grodno state agrarian university»

Grodno, Republic of Belarus

(Republic of Belarus, 230008, Grodno, 28 Tereshkova st.; e-mail:

ggau@ggau.by);

² – EI «Belarusian State Agricultural Academy»

Gorki, Republic of Belarus

(Republic of Belarus, 213410, Gorki, 10 Michurina st.)

Key words: *scheduled cell death, immunity, immunoglobulin, blood, laser, lymph gland, digestive system, calves, enzymes.*

Summary. *Due to LLLT the lymph glands with well-marked light cores form more actively. The number of nubs with light cores increases by 12,5%. The facts as the extension of cortical substance area, intensive development of follicular glands and light cores, increasing of plasmocyte blastic variant and microcirculation activation indicate that the immunological activity of lymph glands increases.*

(Поступила в редакцию 20.06.2019 г.)

Введение. Низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) начали широко использовать в биологии и медицине в 1961 г., когда А. Javan (США) создал He-Ne-лазер (гелий-неоновый лазер), излучающий «чистый» поток красного света. Для медицинских и биологических целей чаще используются лазеры в диапазоне видимого УФ- и ИК-спектра [2, 7].

Для терапевтических целей в основном используют НИЛИ с длиной волны 0,632 мкм и 0,830-0,888 мкм (красной и инфракрасной оптической области спектра электромагнитных волн) [4, 12].

Как отмечает Ю. Н. Леонтьев [9], НИЛИ обладает стимулирующим воздействием на регенерационные процессы в тканях и клетках. Вероятнее всего, этот эффект определяется стимуляцией иммунных механизмов и улучшением микроциркуляции в зоне патологического процесса.

Обобщая механизм действия НИЛИ на биологические объекты, можно выделить три аспекта фотобиологических эффектов:

► часть энергии НИЛИ концентрируется объектом, аккумулируется в макроэнергетических химических связях системы АТФ, на основании чего наступает стимуляция ферментных систем клетки и повышение энергетической активности клеточных органелл;

► с точки зрения биологии среды, такие как тканевая жидкость, лимфа, плазма крови могут служить и средством восприятия, транспортировки НИЛИ за счет резонансной спектральной памяти, структурной альтерации, а также переизлучения клетками;

► под влиянием НИЛИ наступает укорочение фаз воспаления, снижается экссудация, активизируются пролиферативные и иммунные процессы [1].

Глубокие исследования по взаимодействию НИЛИ с поверхностными слоями кожи и, особенно, влияние света на оксигемоглобин артериальной крови в кожных кровеносных сосудах провел М. М. Асимов и др. [2].

Как отмечают исследователи, локальное повышение концентрации кислорода в ткани в результате фотодиссоциации оксигемоглобина *in vivo* является первичным механизмом биостимулирующего и терапевтического действия НИЛИ. По их мнению, существуют два основных механизма биологического действия лазерного излучения: фотохимический и фотофизический. Механизмы взаимодействия лазерного излучения с биотканью можно представить следующим образом (рисунок 1).



Рисунок 1 – Схема механизмов взаимодействия лазерного излучения с биотканью (по: М. М. Асимов и др. [2])

Несмотря на большое количество исследований по влиянию НИЛИ на биологические структуры различного уровня, вопрос о механизме первичных фотофизических процессов, определяющих биологическое и терапевтическое действие НИЛИ, остается открытым и является предметом многочисленных дискуссий [8, 22].

Исследования, проведенные на биологических системах, различного уровня организации (молекулы ферментов в растворе, культура клеток человека и животных) позволили сделать вывод, что в основе биологической активности лежат вызванные НИЛИ перестройки про-

странственной структуры компонентов клетки, ответственные за регуляцию метаболизма [5, 21].

Среди других первичных механизмов биологического действия НИЛИ можно выделить: ► перестройку жидкокристаллических комплексов; ► изменение конформации молекул и мембран клеток; ► изменение активности полифункциональных молекул, как циклический гуанинмонофосфат и оксид азота [6].

Биологическое действие НИЛИ приводит к перестройке основополагающих процессов, обеспечивающих поддержание гомеостаза в организме. В пользу плейотропного характера первичного действия НИЛИ свидетельствует разнообразие физиотерапевтических и лечебных эффектов [13, 15, 16, 20]. К биологическим эффектам можно отнести:

- противовоспалительное воздействие;
- анальгезирующее влияние;
- иммуномодулирующее действие;
- метаболический эффект;
- нормализация деятельности органов и систем;
- влияние на трофико-регенеративные процессы;
- рефлекторное и противоотечное действия.

В отличие от многих других лечебных процедур лазерное излучение можно использовать как в комбинированном виде, так и в сочетании с медикаментозными средствами.

При лазеротерапии наиболее выраженным является эффект улучшения кровообращения и активация обменно-трофических процессов [14, 18]. При воздействии НИЛИ на кровь в ней происходит каскад фотохимических и фотофизических процессов, связанных с изменением белков, липидов плазмы, форменных элементов, активности антиоксидантной системы (АОС) и ряда ферментных систем.

При внутривенном облучении крови фиксируется рост числа миокардиоцитов, увеличение в них количества органелл, объема миофибрилл, что сопровождается активизацией сократительной способности миокарда [10, 11, 19]. НИЛИ стимулирует процессы регенерации патологически измененных тканей. Существуют научные данные о том, что лазеротерапия ран и трофических язв способствует активизации кровоснабжения в измененных тканях, уменьшает отек, синхронизируется заживление и эпителизация.

В последние годы лазерные технологии стали применяться в ветеринарной медицине, что позволяет снизить применение антибиотиков и тем самым повысить качество животноводческой продукции [3, 17].

Лазерное излучение может быть применено как самостоятельно, так и в сочетании с медикаментозными препаратами. По данным В. П. Иноземцева и др. [7], эффективность лазерного излучения при терапии коров, больных маститом, составила: при хроническом мастите – 54,8-61,2%, при субклиническом (положительная проба отстаивания) – 83,5-6,5%, при отеке вымени – 89,6-100%. Лечебная эффективность лазерной терапии при заболевании коров эндометритом составила 77,0-89,0%, при субинволюции матки – 81,0-90,0% и при гипофункции яичников – 7,0-10,0%.

Общий терапевтический эффект при заболеваниях вымени у коров составил 77,0-85,7% и при патологии матки – 74,3-86,9%. При заболевании бронхопневмонией лечебная эффективность составила 81,7-98,3%, атонии преджелудков – 87,6-95,0%, задержании последа – 77,5-80,6%, острых и хронических эндометритах – 82,0-85,3% и маститах – 92,0-97,3%.

Следовательно, НИЛИ относится к числу перспективных и информационно значимых средств, для коррекции состояния регуляторных систем, обмена веществ, нормализации деятельности поврежденного органа и стимуляции роста животных.

Цель работы – исследовать иммунологические перестройки в организме телят при облучении низкоинтенсивным лазерным излучением (НИЛИ).

Материал и методика исследований. Объектом для исследований служили телята молозиво-молочного периода с живой массой при рождении от 27 до 38 кг. Материалом исследований служили лимфатические узлы. Для проведения иммунологических и морфологических исследований использовали 10-, 30- и 35-дневных телят.

Биопсию надколенных лимфоузлов проводили после инфильтрационной анестезии 1%-м раствором новокаина по Э. И. Веремею и др. (2000) при помощи игл для режущей биопсии мягких тканей (рисунки 2 и 3). Для прижизненной оценки морфологических изменений в лимфатических узлах проводили биопсию надколенных лимфатических узлов согласно руководству по биопсии М. А. Пальцева и др. (2011).

Облучение надколенных лимфатических узлов (коленной складки – *ln. subiliacus*) телят проводили при экспозиции 3 мин на правый и левый лимфоузел при 8 сеансах (по 1 сеансу ежедневно), после 4 сеансов был 2-дневный перерыв. Мощность на выходе излучателя составляла 15 мВт, красная область спектра, плотность мощности светового потока – 120-140 мВт/см².

Надколенный лимфоузел собирает лимфу из кожи брюшной стенки, тазовой конечности и напрягателя широкой фасции бедра, от-

ток лимфы происходит в подвздошные лимфоузлы, откуда лимфа поступает в поясничную цистерну. Область облучения лимфатического узла представлена на рисунке 4.

Биоптаты лимфатических узлов фиксировали в 10-12%-м нейтральном забуференном формалине по Р. Лилли при $t+4^{\circ}\text{C}$ и $t+20^{\circ}\text{C}$, жидкости И. Карнуа, фиксаторе ФСУ А. М. Бродского, 70° спирте. Для светооптического исследования фрагменты лимфатических узлов обрабатывали по стандартной методике и заключали в парафин. Пробы пропитывали парафином в термостате ТВЗ-25 при $t+54^{\circ}\text{C}$ – 1,5-3 часа. Срезы готовили на ротационном микротоме МПС-2 и МС-2 толщиной 4-5 мкм. Гистосрезы монтировали на предметных стеклах Ц1923. Для дегидрирования гистосрезов использовали калибровочные спиртовые растворы.

Для получения обзорной информации структурных компонентов гистосрезы окрашивали гематоксилин – эозином по П. Эрлиху, прочным зеленым по И. Ван Гизону, эозин-метиленовым синим по М. Лейшману, альциновым синим с докраской ядер гематоксилином.

Оценку белоксинтезирующего аппарата клеток лимфатических узлов проводили по методикам Ж. Браше, Ф. Ниссля и в модификации метода Ф. Ниссля по В. В. Малашко (1993). Определение плазмочитов проводили по методу Ж. Браше. Подсчет плазмочитов проводился в 10 полях зрения микроскопа.

Плазмочиты отличали от других клеток по эксцентрично расположенному ядру и бледно окрашенному участку, расположенному вокруг ядра, т. н. «перинуклеарная зона просветления» или «светлый дворик».

Для оценки физиологической и репаративной регенерации клеток лимфатических узлов проводили подсчет митозов. Для фиксации материала в этом случае использовали раствор П. Буэна. Окраску срезов проводили по методу Фразера. Фигуры митоза окрашиваются в темно-синий цвет, ядра остальных интерфазных клеток – в красный цвет. Результаты исследований выражали в виде митотического индекса (МИ): $\text{МИ}=(n/N) 1000$, где N – общее количество клеток; n – общее число делящихся клеток.

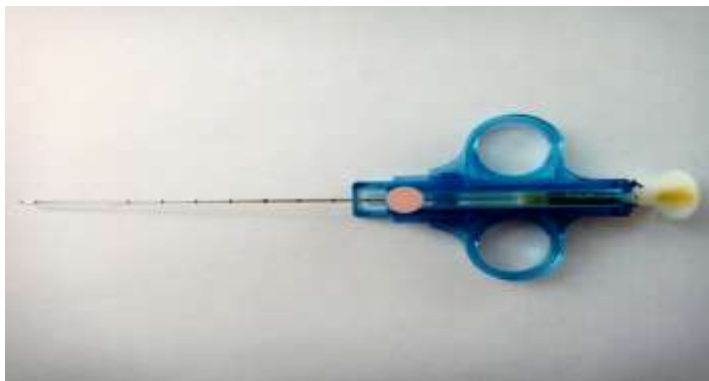
Кровеносное русло лимфатических узлов выявляли с помощью гистохимической реакции на щелочную фосфатазу (ЩФ, КФ 3.1.1.1) по методу Гомори, т. к. фермент локализуется в эндотелии кровеносных сосудов. В качестве субстрата применяли β -глицерофосфат натрия. Срок инкубации для щелочной фосфатазы составлял 1 час и методом импрегнации серебром по В. В. Куприянову.

Стереологические параметры, термины, символы и размерность, использованные при морфометрических исследованиях, взяты согласно рекомендациям международного стереологического общества. Морфологическую оценку апоптоза клеток в лимфатических узлах проводили путем визуализации «свободно лежащих ядер», под которыми подразумеваются ядра с измененной морфологией (конденсация и маргинация хроматина, сжатие ядра), находящиеся в межклеточных пространствах. Ядра клеток и «свободно лежащие ядра» выражали в объемных процентах (об. %).



Игла COLT позволяет взять размер столбика 20 мм. Заряжающийся пружинный стилет и канюля позволяет получить диагностический материал с минимальным смещением ткани от иглы. Толщина – 14G (2,20 мм), длина – 11 см

Рисунок 2 – Игла автоматическая для режущей биопсии мягких тканей – COLT (одноразовая, стерильная). Фото. Оригинал



Игла позволяет взять размер столбика 20 мм. Заряжающийся пружинный стилет и канюля позволяет получить диагностический материал с минимальным смещением ткани от иглы. Толщина 18G (1,30 мм), длина 10 см

Рисунок 3 – Игла полуавтоматическая для режущей биопсии мягких тканей (одноразовая, стерильная). Фото. Оригинал



Рисунок 4 – Область воздействия лазером на лимфатический узел (красная точка), вид сбоку. Фото. Оригинал

Подсчитывали в каждом поле зрения общее число ядер, а среди них количество «свободнолежащих ядер» лимфатического узла и далее вычисляли индекс апоптоза (ИА, %) по формуле: $ИА = \frac{СЛЯ}{Я} \times 100\%$, где СЛЯ – количество «свободнолежащих ядер», Я – общее количество ядер.

На морфологическом уровне каждая цитологическая структура описывалась набором морфологических признаков. Морфометрию проводили с использованием микроскопов МБИ-11 с объективом 40x0,65 и окуляром x7, а также с использованием компьютерной системы «Биоскан» на базе микроскопа ЛОМО МИКМЕД-2 и цветной цифровой видеокамеры PHILIPS HIP-7830 под управлением операционной системы Windows. Микрофотографии выполнены на фотобумаге для струйной печати «LOMOND». В отдельных случаях для измерения цитологических структур использовали линейную горизонтальную шкалу-окуляр микрометра со 100 делениями, ценой деления – 3 мкм.

Статистическую обработку цифрового материала проводили с использованием программного пакета Microsoft Excel с уровнем достоверности при $P < 0,05$. Сокращения, используемые в статье, приведены согласно ГОСТ 7,12-77, библиографический список составлен согласно ГОСТ 7,1-2003. Результаты исследований приведены к Международной системе единиц СИ. Термины приведены согласно «Международной ветеринарной анатомической номенклатуре».

Результаты исследований и их обсуждение. Сопоставление данных в контроле и опыте показывает, что под влиянием НИЛИ отмечается более активное формирование лимфатических узелков с хорошо выраженными светлыми центрами (рисунок 5а, б). Содержание узелков со светлыми центрами в опыте увеличивается на 12,5% ($P < 0,05$). Известно, что в светлых центрах происходит активное образование лимфоцитов, предшественников плазматических клеток, выделяющих IgG и IgA.

При анализе светлых центров мы обнаруживали плазмоциты на разных стадиях развития. Они располагались главным образом в средних отделах светлых центров. В контрольных образцах их количество достигает 1,4-1,8%, в опыте – 2,9-4,7%. Клетки, находящиеся в фолликулах, со светлыми центрами (вторичные) способны к быстрой пролиферации на антигенные раздражения.

Кроме того, наблюдается возрастание числа средних (9-12 мкм) и больших лимфоцитов (15-28 мкм) и усиление в них биосинтетических процессов, что свидетельствует об активации иммунокомпетентных клеток. Усиление лимфотока и моторной функции узла сопровождается развитием трабекул и капсулы, гладкомышечных элементов, расширением синусов и увеличением площади мозгового вещества.

Об усилении лимфоцитопозитической и иммунопозитической функции свидетельствует увеличение площади коркового вещества, интенсивное развитие фолликулов и светлых центров, увеличение числа бластных формами плазмоцитов и активизация микроциркуляции

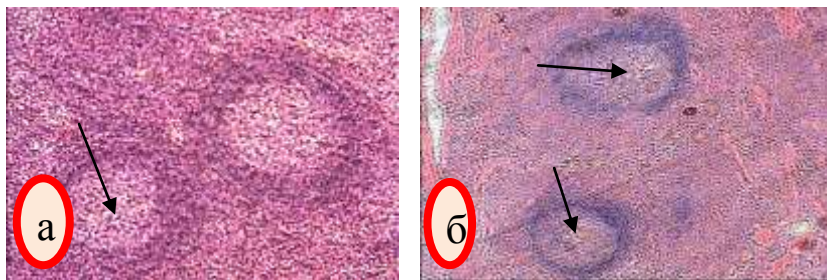
(рисунок 6 а, б). Об интенсивности барьерно-фильтрационной деятельности узлов свидетельствует увеличение числа макрофагов. Об активности иммуноцитопоза мы судили по содержанию плазмочитов и интенсивности развития Т- и В- зон узла. Изучение реакции лимфатических узлов проводили на телятах 30-дневного возраста.

При исследовании регионарных лимфоузлов у опытных телят наблюдается расширение коркового вещества за счет увеличения площади фолликулов и расширения межузелковых синусов с высокой клеточностью.

Имеется диффузное расширение паракортикальной зоны. В мягкотных тяжах мозгового вещества хорошо прослеживается инфильтрация плазмочитами и макрофагами. В регионарных лимфатических узлах опытных животных кортикальное плато (Т-зона) занимает в 1,5 раза большую площадь, чем в контроле с тенденцией к абсолютному увеличению содержания клеток в этой зоне.

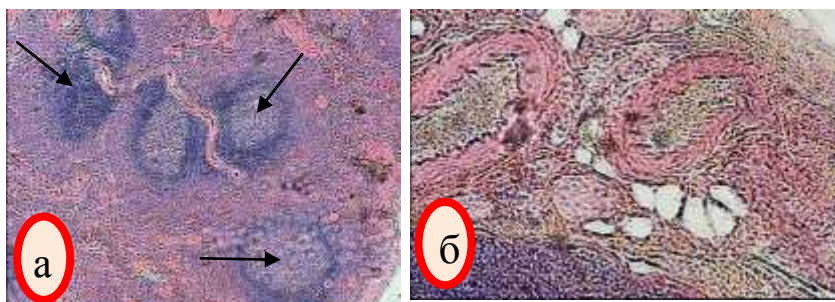
Таким образом, в группе животных при облучении НИЛИ отмечается умеренная локальная реактивность лимфоидной системы. Вышеизложенный факт подтвержден цифровыми данными. В таблице 1 представлены морфометрические параметры развития структурных компонентов надколенных лимфатических узлов.

Анализируя данные таблицы 1, можно отметить, что ряд важных компонентов лимфатических узлов в опыте имеют существенные различия. В опытных образцах более мощнее развита капсула узла, где ширина в опыте достигает $21,87 \pm 1,68$ мкм, в контроле – $15,23 \pm 1,32$ мкм, что больше на 43,6% ($P < 0,05$). Измерение параметров развития коркового вещества узлов показало, что этот показатель в контроле достигал $645,55 \pm 19,37$ мкм (в процентном отношении из всех слоев на этот слой приходилось 25-30%), в опыте ширина данного слоя составляла $770,14 \pm 21,69$ мкм (на него приходилось 30-35%).



а – лимфатические узелки со сформированными светлыми центрами (стрелка), расположенные недалеко друг от друга (опыт, НИЛИ);
 б – лимфатические узелки с нечетко выраженными светлыми центрами (стрелки), расположены на значительном расстоянии между смежными узелками (контроль)

Рисунок 5 – Надколенный лимфатический узел 30-дневного теленка. Гематоксилин-эозин. Микрофото. Биоскан. Ув.: а, б – 280



а – насыщенность коркового вещества лимфатическими узелками (стрелки) и степень развития микроциркуляторного русла (опыт, НИЛИ); б – интенсивность кровоснабжения мозгового вещества лимфатического узла (опыт, НИЛИ)

Рисунок 6 – Морфология надколенного лимфатического узла 30-дневного теленка. Гематоксилин-эозин. Микрофото. Биоскан. Ув.: а, б – 280

Таблица 1 – Размеры структурных компонентов надколенных лимфоузлов телят (n=5)

Параметры	Группа	
	контроль	опыт (НИЛИ)
Ширина капсулы, мкм	15,23±1,32	21,87±1,68*
Ширина коркового вещества, мкм	645,55±19,37 (25-30%)	770,14±21,69** (30-35%)
Ширина мозгового вещества, мкм	2047,70±33,04 (70-75%)	2300,35±35,07** (65-70%)
Диаметр светлых центров, мкм	45,48±1,38	60,12±2,65*
Ширина синусов, мкм		
▶ краевого	35,45±1,35	45,18±1,32*
▶ промежуточного коркового	25,03±1,37	27,89±2,72 ^{н/д}
▶ промежуточного мозгового	38,18±1,38	40,32±1,33 ^{н/д}
Число лимфатических узелков		
▶ без светлых центров	35,53±1,34	34,24±2,23 ^{н/д}
▶ со светлыми центрами	11,17±0,48	18,39±1,53 ^х
Мякотные тяжи, %	12,53±1,87	21,18±1,38 ^х

Примечание – * $P<0,05$; ** $P<0,01$; н/д – недостаточно

Одним из функциональных характеристик лимфатических узлов служит показатель степени развития и дифференцировки лимфатических узелков. Под влиянием НИЛИ число узелков со светлыми центрами было достоверно выше и достигало в опыте $18,39\pm1,53$ шт., в контроле – $11,17\pm0,48$ шт., что выше на 64,6% ($P<0,05$).

Из анализа данных таблицы 2 вытекает, что в лимфоидных узелках с центрами размножения в опыте был больший процент лимфоцитов по сравнению с контролем ($P<0,05$; $P<0,01$), митотический индекс в опыте составлял $1,15\pm0,17$, в контроле – $0,98\pm0,06$ ($P<0,05$).

На основании вышеизученных структур проведен анализ содержания в корковом веществе (плато) иммунокомпетентных клеток (таблица 3).

Таблица 2 – Цитологический состав лимфоидных узелков надколенных лимфатических узлов телят (n=5)

Клетки	Узелки без центров размножения		Узелки с центрами размножения	
	контроль	опыт (НИЛИ)	контроль	опыт (НИЛИ)
Лимфоциты, %	5,28±0,62	6,12±0,45	7,45±0,83	16,15±1,17**
Митозы	0,17±0,09	0,23±0,07	0,98±0,06	1,15±0,17*
Макрофаги, %	3,06±0,26	3,46±0,23	7,52±0,78	9,82±0,72 ^{н/д}

Примечание – * $P<0,05$; ** $P<0,01$; н/д – недостаточно

Таблица 3 – Содержание клеток в корковом плато надколенных лимфоузлов теленка (n=5)

Клетки	Группа	
	контроль	опыт (НИЛИ)
Лимфоциты, %:		
▶ большие	2,52±0,38	4,78±0,47*
▶ средние	10,49±1,23	17,71±1,65*
▶ малые	71,64±2,17 ^x	63,22±2,03
Макрофаги, %	0,37±0,04	3,47±0,31 ^{**x}

*Примечание – *P<0,05; **P<0,01*

Анализ данных таблицы 3 показывает, что в корковом плато (веществе) содержание больших лимфоцитов в контроле достигает 2,52%, в опыте – 4,78% (P<0,05), средних лимфоцитов – 10,49 и 17,71% (P<0,05) соответственно.

Однако в контрольной группе было увеличено количество малых лимфоцитов – 71,64%, в опытной группе – 63,22% (P<0,05). Содержание плазмоцитов в корковом веществе под влиянием НИЛИ составило 5,15%, в контроле – 4,38% (P<0,05), макрофагов – 3,47 и 0,37% (P<0,01) соответственно.

Аналогичный анализ проведен относительно содержания лимфоидных клеток в мякотных тяжах надколенных лимфоузлов (таблица 4).

Таблица 4 – Содержание клеток в мякотных тяжах надколенных лимфоузлов теленка (n=5)

Клетки	Группа	
	контроль	опыт (НИЛИ)
Лимфоциты, %		
▶ большие	5,47±0,86	9,13±0,89*
▶ средние	26,76±2,15	29,18±2,42 ^{н/д}
▶ малые	55,41±4,10 ^x	39,25±2,58
Плазмоциты	36,58±4,55	51,63±3,65*
Макрофаги	1,39±0,48	2,33±0,52 ^{н/д}

*Примечание – *P<0,05; н/д – недостоверно*

Из результатов, представленных в таблице 4, видно, что содержание больших лимфоцитов достигло 9,13±0,89% и 5,47±0,86% (P<0,05) соответственно. По содержанию средних лимфоцитов получены недостоверные результаты.

В контрольной группе телят преобладали малые лимфоциты – 55,41±4,10%, в опыте – 39,25±2,58% (P<0,05). Содержание макрофагов также было недостоверно по отношению к контрольной группе телят. Концентрация плазмоцитов в мякотных тяжах превышала контрольный уровень на 41,14% (P<0,05).

Наряду с дифференцировкой клеток происходит и обратный процесс – их гибель. Это процесс получил название «апоптоз». Проявления апоптоза (эмбриональные, молекулярные, клеточные, тканевые и организменные) изучаются особенно активно последние 10 лет в культуре клеток, в эксперименте, в норме и в патологии. Старение клеток связано с дисфункцией митохондрий, прежде всего, в нервной и мышечной ткани, а также в лимфоцитах, что и приводит к апоптозу клеток.

Именно с апоптозом лимфоцитов связывают возрастное снижение иммунитета. Данные по апоптозу лимфоцитов в надколленных лимфатических узлах представлены в таблице 5. Как видно из данных таблицы 5, в контрольной группе телят гибель клеток достигала $2,50 \pm 0,07$ об.%, в опыте – $1,60 \pm 0,09$ об.% ($P < 0,05$), индекс апоптоза составил 21 и 14% соответственно.

Таблица 5 – Морфометрические показатели, характеризующие интенсивность апоптоза лимфоцитов в надколленных лимфатических узлах телят ($n=5$)

Показатель	Группа	
	контроль	опыт (НИЛИ)
Ядра, об.%	$1,20 \pm 0,13$	$1,17 \pm 0,53$
«Свободно лежащие ядра», об.%	$2,50 \pm 0,07$	$1,60 \pm 0,09^*$
Индекс апоптоза, %	21	14

*Примечание – $*P < 0,05$*

Еще С. S. Minot в 1908 г., вводя понятие митотического индекса как отношение числа клеток в митозе к общему числу клеток, указал на важность данного показателя как в ходе эмбриогенеза, так и в постнатальном онтогенезе. Исходя из этого положения, нами определен митотический индекс (МИ) в отношении лимфоцитов, который у телят опытной группы составил $43,0 \pm 2,8\%$, в контрольной группе животных – $28,0 \pm 1,9\%$ ($P < 0,05$).

Артериолы в лимфоузле располагаются параллельно ходу трабекулярных структур, последовательно отдавая свои дочерние ветви, т. е. артериолы диаметром $28,5 \pm 0,47$ мкм, которые ориентированы приблизительно под прямым углом. Прекапилляры имеют диаметр равный $15,6 \pm 0,68$ мкм. Капиллярные петли, оплетающие лимфатические узелки со всех сторон, представлены продольно расположенными или «длинными» капиллярами, находящимися во взаимосвязи с поперечными или «короткими» капиллярами.

«Длинные» капилляры отличаются упорядоченностью расположения, незначительной извилистостью хода, диаметры их равны $6,12 \pm 0,23$ мкм. «Короткие» капилляры более извилистые по протяже-

нию, диаметры их равны $7,44 \pm 0,49$ мкм. Обращает внимание разнообразие организации капиллярных петель: средне- и крупноячеистые в местах близкого расположения к артериолам и мелкоячеистые прямоугольные петли в местах формирования веноулярных отделов гемоциркуляторного русла.

Посткапилляры диаметром в $16,81 \pm 0,63$ мкм и веноулы диаметром в $34,12 \pm 1,38$ мкм не имеют каких-либо отличительных особенностей. В пределах одного сегмента гемоциркуляторного русла (участок расположения звеньев между артериолой последнего порядка и венолой первого порядка) веноуло-артериальное отношение диаметров или веноуло-артериальный коэффициент составляет в среднем $1,18-1,21$.

На препаратах интактных животных обнаруживается параллелизм хода собирательных венул относительно артериол. Капилляры, средние диаметры которых составляют $6,77 \pm 0,36$ мкм, путем соединения друг с другом образуют полигональные средние ячеистые капиллярные петли. Выявляются нитевидные ($1,61-2,33$ мкм) или «резервные» капилляры.

Таким образом, в план строения микроциркуляторного русла лимфатического узла включаются комплекс микрососудов, состоящий из артериол, прекапиллярных артериол, капилляров, посткапиллярных венул. Прекапиллярным (терминальным) артериолам принадлежит ключевая роль в оксигенации лимфатического узла.

Расстояние между близлежащими прекапиллярной артериолой и посткапиллярной венолой в среднем в контрольной группе достигает $444,48 \pm 32,11-617,9 \pm 33,17$ мкм, в опытной группе – $584,34 \pm 23,55-609,18 \pm 23,64$ мкм. Диаметр посткапиллярных венул достигает в контроле – $14,81 \pm 0,28-15,32 \pm 0,31$ мкм, в опыте – $16,44 \pm 0,85-19,25 \pm 0,71$ мкм.

Анализируя полученные данные, можно констатировать, что под воздействием НИЛИ происходит ускорение кровотока, расширение микрососудов и улучшается микроциркуляция. Это обеспечивает благоприятный метаболический эффект. Расширение просветов сосудов связано с тем, что главными акцепторами лазерной энергии в сосудах микроциркуляторного русла рассматриваются гладкие миоциты артериол.

Различия в реактивности артериол на воздействие НИЛИ мы объясняем особенностями структурно-функциональной организации сократительного аппарата этих сосудов. В среднем протяженность микрососудов в опыте колебалась в пределах $845-1032$ мкм, в контроле – $716-935$ мкм. Под воздействием НИЛИ средняя протяженность сосудов увеличивается на $13,7\%$ ($P < 0,05$) по отношению к контролю.

Плотность капилляров на единицу площади лимфатического узла в опытной группе телят увеличивается на 32,2% ($P < 0,05$), при этом показатель васкуляризации равняется 1,25 против 1,12 в контрольной группе.

Закключение. Действие красного спектра НИЛИ избирательно влияет на определенные ферментные системы организма, вызывая изменения активности ферментов и соответствующую реакцию клеток. НИЛИ оказывает стимулирующее действие на регенерационные и иммунологические процессы в клетках и тканях. Изменения энергетического состояния макро- и микросистем меняют реакционную способность отдельных участков макромолекул, их конформацию, что в конечном итоге сказывается на течении клеточного метаболизма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреев, Г. Лазеротерапия в практике животноводства / Г. Андреев, А. Лебедев, Д. Войлошников // Молочное и мясное скотоводство. – 2001. – № 2. – С. 28-30.
2. Асимов, М. М. Лазерно-индуцированная фотодиссоциация оксигемоглобина *in vivo* и механизм биостимулирующего и терапевтического действия низкоинтенсивного лазерного излучения / М. М. Асимов, Р. М. Асимов, А. Н. Рубинов // Лазерная физика и оптические технологии: сб. науч. тр. VII междунар. конф.; Минск, 17-19 июня 2008 г.: в 3 т. / Ин-т физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси; Н. С. Казак (отв. ред.) [и др.]. – Минск, 2008. – Т. 2. – С. 322-326.
3. Бурдов, Г. Н. Низкоинтенсивный лазер для лечения и профилактики гинекологических заболеваний у свиней / Г. Н. Бурдов, В. В. Бочкарева, В. В. Власов // Ветеринария. – 2002. – № 9. – С. 35-37.
4. Волотковская, А. В. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на процессы перекисного окисления липидов и активность супероксиддисмутазы крови / А. В. Волотковская // Лазерная физика и применение лазеров: сб. науч. тр. – Минск, 2003. – С. 255-260.
5. Гарбуз, И. П. Морфофункциональные процессы в организме телят-гипотрофиков под воздействием низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) / И. П. Гарбуз, В. В. Малашко // Материалы IX Междунар. студенч. науч. конф. – Гродно, 2008. – С. 100.
6. Илларионов, В. Е. Основы лазерной терапии / В. Е. Илларионов. – М.: Респект, 1992. – 192 с.
7. Иноземцев, В. П. Лазеры – в ветеринарную практику / В. П. Иноземцев, И. И. Балковой // Лазерные технологии в ветеринарии и животноводстве: сб. науч. тр. – Нижний Новгород, 1997. – С. 39-46.
8. Кулеш, И. В. Структурно-метаболические изменения в скелетных мышцах поросят при облучении низкоинтенсивном лазерном излучением / И. В. Кулеш // Ученые записки ВГАВМ. – 2007. – Т. 43, вып. 2. – С. 397-400.
9. Леонтьев, Ю. Н. Новое в практику / Ю. Н. Леонтьев // Лазерные технологии в ветеринарии и животноводстве: реф. сб. / Ю. Н. Леонтьев, Т. В. Крылова. – Нижний Новгород, 1997. – С. 47-50.
10. Лирова, Э. Н. К гистоэнзиматическому изучению нейронов верхних шейных ганглиев при облучении глаза низкоинтенсивным лазерным излучением / Э. Н. Лирова // Экспериментальная и прикладная морфология: сб. науч. тр. – Чебоксары, 1988. – С. 9-11.
11. Ляндрес, И. Г. Морфологические изменения в тканях, как критерий эффективности лазеротерапии / И. Г. Ляндрес // Лазерная физика и применение лазеров: сб. науч. тр. – Минск, 2003. – С. 273.

12. Ляндрес, И. Г. Механизмы биостимуляции низкоинтенсивного лазерного излучения / И. Г. Ляндрес, С. И. Леонович, В. А. Мостовников. – Минск, 1998. – 116 с.
13. Малашко, В. В. Использование лазеротерапии в клинической ветеринарной медицине / В. В. Малашко, И. В. Кулеш, Т. М. Скудная // Лазеры в медицине: материалы респуб. семинара; Гродно, 10-11 октября 2001 г. / Ин-т физики НАН Беларуси; редкол.: А. Н. Рубинов [и др.]. – Минск, 2002. – С. 150-155.
14. Малашко, В. В. Низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) в практике ветеринарной медицины / В. В. Малашко, И. В. Кулеш, Л. В. Гарькавенко // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: сб. науч. тр., посвящ. 75-летию зооинженерного фак. БГСХА: в 2 ч. / Белорус. гос. с.-х. акад.; редкол.: А. В. Соляник [и др.]. – Горки, 2005. – Вып. 8, ч. 2. – С. 48-50.
15. Малашко, В. В. Структурно-биохимические изменения в мышцах и печени свиней при применении низкоинтенсивного лазерного облучения / В. В. Малашко, И. В. Кулеш, Т. М. Скудная // Лазеры в биомедицине: тез. докл. междунар. конф.; Гродно 1-3 октября 2002 г. / Ин-т физики НАН Беларуси; редкол.: А. Н. Рубинов [и др.]. – Минск, 2002. – С. 78.
16. Малашко, В. В. Структурно-функциональные изменения в организме животных при воздействии стресс-факторов / В. В. Малашко, И. В. Кулеш, Т. М. Скудная // V междунар. науч.-практ. конф.: материалы конф. – Горки, 2002. – С. 249-257.
17. Малашко, В. В. Структурно-функциональные перестройки в мышцах поросят-гипотрофиков при облучении лазером / В. В. Малашко, И. В. Кулеш, Л. М. Караедова // Перспективы развития свиноводства: материалы X междунар. конф.; Гродно, 8-9 июля 2003 г. – Гродно, 2003. – С. 124-126.
18. Малашко, Д. В. Эффективность лечебного низкоинтенсивного лазерного излучения при заболевании молочной железы у коров / Д. В. Малашко // Лазерно-оптические технологии в биологии и медицине: материалы междунар. конф.; Минск, 14-15 октября 2000 г.; в 2 т. / Ин-т физики НАН Беларуси; редкол.: А. Н. Рубинов [и др.]. – Минск, 2004. – Т. 2. – С. 413-416.
19. Миненков, А. А. Низкоэнергетическое лазерное излучение красного, инфракрасного диапазонов и его использование в сочетанных методах физиотерапии: автореф. дис. ... д-ра. мед. наук: 03.00.02 / А. А. Миненков; Москов. мед. Ин-т. – М., 2005. – 20 с.
20. Трофимов, А. Ф. Лазерные технологии в ветеринарии и животноводстве / А. Ф. Трофимов, М. В. Шалак, Д. В. Малашко // Наука – производству: сб. науч. тр. / Гродн. гос. аграр. Ун-т; В. К. Пестис (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2001. – С. 339-342.
21. Шейко, Е. А. Использование низкоинтенсивного красного светового излучения для повышения противоопухолевой эффективности циклофосфана в эксперименте / Е. А. Шейко, А. И. Шихлярова, Т. А. Куркина // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2004. – Т. 138, № 12. – С. 665-667.
22. Mito, K. Photodynamic efficiency of macrophage activity in a photosensitizer, lumen with near-IR laser light for photo immunotherapy of cancer / K. Mito // Front. Med. Biol. Eng. – 1996. – Vol. 7, № 2. – P. 81-92.