

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 611.438+615.837

doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-1-79-83

## ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОИНТЕНСИВНОЙ ЛАЗЕРНОЙ ТЕРАПИИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНУЮ ХАРАКТЕРИСТИКУ ТИМУСА

**Александр Александрович Чесноков<sup>1✉</sup>, Елена Станиславовна Головнева<sup>2</sup>,  
Геннадий Васильевич Брюхин<sup>3</sup>**

<sup>1,2</sup> Многопрофильный центр лазерной медицины, Челябинск, Россия

<sup>2,3</sup> Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

<sup>1</sup> [sanka-97-97@mail.ru](mailto:sanka-97-97@mail.ru)

<sup>2</sup> [micron30@mail.ru](mailto:micron30@mail.ru)

<sup>3</sup> [BGenVas@mail.ru](mailto:BGenVas@mail.ru)

**Резюме.** Целью работы являлась изучение влияния высокоинтенсивного лазерного воздействия в терапевтическом режиме на морфофункциональное состояние тимуса крыс. Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 54 крысах, разделенных на 2 группы: контрольная (интактные животные) и опытная – однократное воздействие на область тимуса лазерного излучения (970 нм, 1 Вт/см<sup>2</sup> «ИРЭ-Полус», Россия). Выведение из опыта и забор материала проводили через 1 час, на 1, 3, 7-е сутки после воздействия. Гистологические срезы, окрашенные гематоксилином-эозином, изучали с использованием цифровой морфометрии. Результаты. Однократное лазерное воздействие на тимус приводило к изменению относительной площади функциональных зон тимуса и их клеточной плотности, а также к увеличению количества телец Гассалья в тимических дольках и повышению относительной площади сосудистого русла.

**Ключевые слова:** тимус, лазер, фотобиомодуляция, тимоциты, сосуды

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

## EFFECT OF HIGH-INTENSITY LASER THERAPY ON MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTIC OF THYMUS ON DIFFERENT TERMS OF EXPERIMENT

**Alexander A. Chesnokov<sup>1✉</sup>, Elena S. Golovaneva<sup>2</sup>, Gennady V. Bryukhin<sup>3</sup>**

<sup>1,2</sup> Multidisciplinary Center of Laser Medicine, Chelyabinsk, Russia

<sup>2,3</sup> South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

<sup>1</sup> [sanka-97-97@mail.ru](mailto:sanka-97-97@mail.ru)

<sup>2</sup> [micron30@mail.ru](mailto:micron30@mail.ru)

<sup>3</sup> [BGenVas@mail.ru](mailto:BGenVas@mail.ru)

**Resume.** The purpose of the work was to study the effect of high-intensity laser exposure in the therapeutic mode on the morphofunctional state of rat thymus. Material and methods. The experiment was carried out on 54 rats, divided into 2 groups: control (intact animals) and experimental – a single exposure of laser radiation on the thymus region (970 nm, 1 W/cm<sup>2</sup> IRE-Polus, Russia). Extraction from the experiment and material sampling were carry out after 1 hour, 1, 3, 7 day after exposure. Histological sections stained with hematoxylin-eosin were study using digital morphometry. Results. A single laser exposure on the thymus led to a change in the relative area of the functional zones of the thymus and their cell density, as well as an increase in the number of Gassal's bodies in the thymic slices and an increase in the relative area of the vascular channel.

**Keywords:** thymus, laser, photobiomodulation, thymocytes, vessels

Тимус является центральным органом иммуногенеза, где происходит антигеннезависимое созревание Т-лимфоцитов, завершающееся их миграцией. Процесс дифференцировки Т-лимфоцитов крайне чувствителен к действию различного рода факторов, таких как токсины,

гормоны, различные физические и химические стимулы. Можно предполагать, что физиотерапевтические процедуры, в том числе и лазерное воздействие, затрагивающие область локализации тимуса, могут выступать пусковым фактором изменений иммунного гомеостаза.

В последние годы расширились показания для применения высокоинтенсивной лазерной терапии (ВИЛТ) в клинической практике. Этот вид воздействия применяется для лечения заболеваний суставов, болевых неврологических синдромов, длительно незаживающих язв и пролежней [1, 2]. Высокоинтенсивное лазерное воздействие в терапевтическом режиме оказывает сходные с низкоинтенсивной лазерной терапией (НИЛИ) биостимулирующие эффекты, однако благодаря большей плотности энергии и глубине проникновения терапевтическая поглощенная доза излучения достигается в несколько раз быстрее, часто за один сеанс [3]. При этом влияние высокоинтенсивной лазерной терапии на органы иммунной системы и, в частности, тимус остается не изученным.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить влияние высокоинтенсивной лазерной терапии на морфофункциональное состояние тимуса экспериментальных животных.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа была проведена на 54 крысах-самцах линии Wistar массой 200–250 г в возрасте 4 мес. Исследование проведено в соответствии с принципами Базельской декларации, СП 2.2.1.3218 и Директивой 2010/63/EU по охране животных, используемых в научных целях.

Животные были разделены на 2 группы: 1-я группа – контроль, где воспроизводили все манипуляции с животными, исключая воздействие лазера; 2-я группа – лазерное воздействие на область локализации тимуса. Однократное лазерное воздействие осуществлялось с использованием Ar-Ga лазера «ИРЭ-Полус» (Россия), длина волны 970 нм, доставка излучения через кварцевый световод, плотность мощности 1 Вт/см<sup>2</sup>, время воздействия 1 минута, непрерывный режим.

Выведение животных из эксперимента проводилось на сроках 1 час, 1, 3, 7 суток после воздействия. Животных умерщвляли передозировкой эфирного наркоза. Препараты тимуса фиксировали формалином и изготавливали парафиновые блоки по стандартной гистологической методике. Серийные микротомные срезы (4–6 мкм) окрашивались гематоксилином и эозином для выявления структурных изменений в органе. Гистологические препараты изучали на микроскопе LEICA DMRXA (Германия) и цифровой видеокамеры LEICA DFC 290 (Германия). Изображения микропрепаратов в формате графических файлов TIFF в цветовом пространстве RGB использовали для морфометрических исследований с применением программы анализа изображений ImageScore M (Россия, Москва).

Обработка полученных данных проводилась с помощью лицензированного пакета прикладных программ Excel 2016 и PAST версии 3.24. При обработке полученных данных использовались методы вариационной статистики. Для оценки достоверности различий использовали непараметрические методы (коэффициент Манна – Уитни). Данные представлены как среднее арифметическое значение и его ошибка ( $M \pm m$ ). Статистически значимыми считали различия  $p \leq 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Динамика площади зон тимуса (субкапсулярной, кортикальной и медуллярной) является отражением его функционального состояния. Площадь субкапсулярных зон тимуса крысы через час после лазерного воздействия практически не изменилась, однако последующие наблюдения показали постепенное увеличение площади данной зоны, достигающий максимального значения на 7-е сутки (табл. 1).

Таблица 1

Динамика относительной площади зон тимуса крысы после воздействия ВИЛТ, %

Зоны тимуса	Контроль	1 час	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки
Субкапсулярная	8,12 ± 0,29	8,37 ± 0,34	8,14 ± 0,39	9,55 ± 0,40*	12,16 ± 0,50*
Кортикальная	62,70 ± 3,17	63,40 ± 2,52	60,15 ± 1,81	65,73 ± 1,10*	62,18 ± 1,12
Медуллярная	29,19 ± 2,49	28,21 ± 2,42	31,23 ± 1,93*	25,22 ± 0,86*	23,21 ± 0,80*

\* Статистически достоверные отличия между опытной и контрольной группой ( $p \leq 0,05$ ).

При исследовании площади коркового вещества на 3-и сутки было выявлено ее увеличение на 5 %, без достоверных изменений на других сроках эксперимента.

Площадь мозгового вещества к концу первых суток после лазерного воздействия увеличивалась

на 6 %, на 3-и сутки снижается на 15 % и к 7-м суткам наблюдения снижалась на 25 %.

Таким образом, изменение площади тимических зон после лазерного воздействия происходило в основном за счет повышения площади субкапсулярной зоны и уменьшения медуллярной.

Эти результаты согласуются с данными, полученными при анализе плотности расположения клеток тимуса в каждой из его функциональных зон (табл. 2). Клеточная плотность субкапсулярной зоны

достоверно снижалась на 62 % через час после воздействия лазера, затем постепенно увеличивалась, достигая максимума на 3-и сутки, а к 7-м суткам снова снижалась на 7 %.

Таблица 2

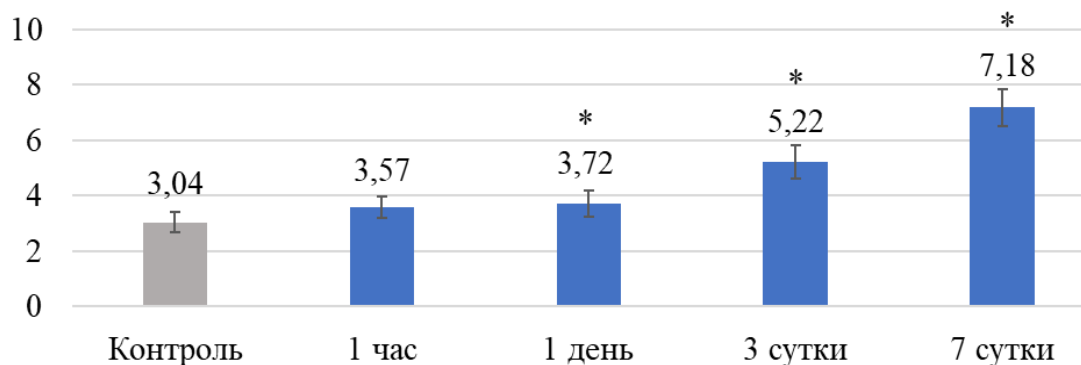
Динамика клеточной плотности в различных зонах тимуса крыс после воздействия ВИЛТ (количество клеток/1000 мкм<sup>2</sup>)

Зоны тимуса	Контроль	1 час	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки
Субкапсулярная	38,54 ± 1,90	23,75 ± 0,72*	36,75 ± 1,86	44,25 ± 1,79*	35,95 ± 1,25
Кортикальная	35,50 ± 1,05	42,75 ± 1,42*	52,05 ± 1,56*	52,75 ± 1,59*	51,05 ± 1,17*
Медуллярная	23,375 ± 1,25	26,70 ± 0,91*	26,55 ± 1,05	27,55 ± 0,89*	26,95 ± 0,74

\* Статистически достоверные отличия между опытной и контрольной группой ( $p \leq 0,05$ ).

Клеточная плотность коркового вещества статистически значимо увеличивалась на всех сроках эксперимента. Плотность клеток мозгового вещества была выше, чем в контроле на сроках 1 час после лазерного воздействия и на 3-и сутки.

Количество телец Гассалья в тимусе после ВИЛТ достоверно увеличивалось, начиная с первых суток эксперимента, и достигало максимального значения на 7-е сутки (рис. 1, 2). Наибольшее число телец Гассалья наблюдалось на 7-е сутки после воздействия лазера.



\* Статистически достоверные отличия между опытной и контрольной группой ( $p \leq 0,05$ ).

Рис. 1. Количество телец Гассалья в тимической доле после ВИЛТ

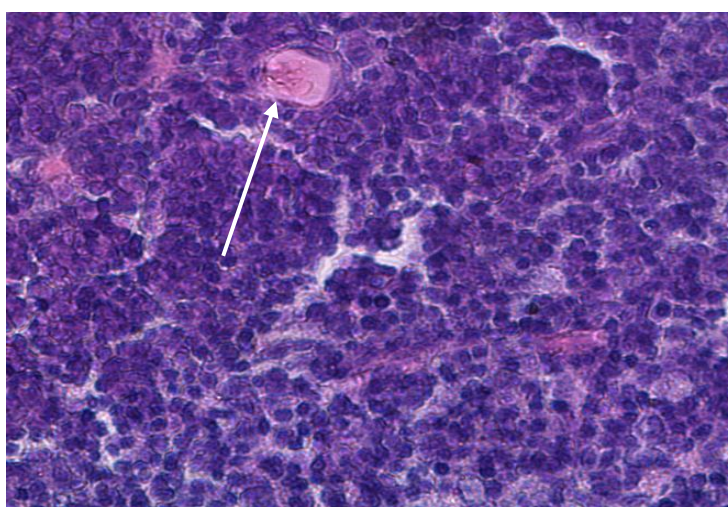
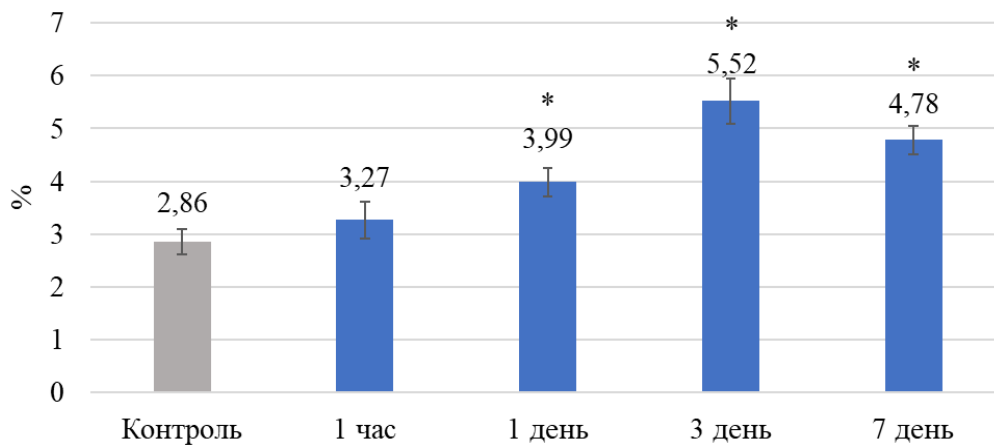


Рис. 2. Тимус крысы опытной группы. Тельца Гассалья (указаны стрелками). Окраска: гематоксилин и эозин. Микрофото. Увеличение 400 (об.×40; ок.×10)

Функционирование тимуса, в том числе интенсивность пролиферации и дифференцировки тимоцитов, существенно зависит от характера кровоснабжения. В связи с этим нами был проведен анализ площади сосудистого русла тимуса крыс.

Под влиянием высокоинтенсивной лазерной терапии площадь сосудистого русла в тимусе увеличивалась, начиная с первого часа воздействия и достигала максимального результата на 3-и сутки исследования (рис. 3).



\* Результаты являются статистически достоверными при  $p < 0,05$ .

Рис. 3. Относительная площадь сосудистого русла тимуса после ВИЛТ

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что ВИЛТ оказывает выраженное влияние на строму и паренхиму тимуса, приводя к изменениям в количественном составе клеточных элементов даже при однократном воздействии. Согласно литературным данным [3, 4], многократное низкоинтенсивное лазерное воздействие приводит к уменьшению количества тимоцитов в корковом веществе тимуса на ранних сроках, с последующим увеличением, в то время как при однократном лазерном воздействии в нашем эксперименте количество клеточных элементов коркового вещества увеличивалось, начиная с 1 часа эксперимента. Сходные результаты наблюдаются как в субкапсулярной зоне, так и в мозговом веществе. В литературе имеются сведения, что под влиянием стрессовых факторов, к которым относится многократное лазерное облучение, возможна стимуляция миграции тимоцитов, вызванная воздействием кортизола при активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси [3]. Однократное лазерное воздействие при ВИЛТ не вызывает подобных эффектов. Полученные нами результаты согласуются с имеющимися в литературе сведениями о стимулирующем влиянии лазерного излучения, как на генетический аппарат лимфоидных клеток, так и на ретикулоэпителиальные клетки, которые вырабатывают тимические гормоны, стимулирующие процесс лимфоцитопоэза и клетки сосудистой стенки [5, 6]. Повышение количества телец Гассалья после ВИЛТ свидетельствует об активации процессов дифференцировки Т-лимфоцитов и фагоцитоза клеток, что является отражением повышения функциональной активности тимуса.

Известно, что воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения увеличивает количество монооксида азота (NO), синтезируемого eNOS, так как протопорфирин IX, входящий в состав NOS, является фотоакцептором лазерного излучения. Оксид азота критически важен для регуляции нормального сосудистого тонуса и быстрой регуляции тканевого кровотока [3, 6]. Лазерное воздействие также может влиять на долговременные механизмы активации кровотока за счет стимуляции клеток – источников факторов роста и ферментов [2, 7, 8, 9].

Полученные нами данные о стабильном увеличении площади сосудистого русла тимуса с первых по 7-е сутки эксперимента подтверждают, что эффекты ВИЛТ реализуются с вовлечением клеток сосудистой стенки.

В связи с этим можно сделать вывод, что однократное воздействие ВИЛТ оказывает комплексный стимулирующий эффект на клеточные популяции тимуса.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод, что высокоинтенсивная лазерная терапия оказывает стимулирующий эффект на функциональную активность тимуса крыс, приводя к изменениям площади функциональных зон, увеличению клеточной плотности, количества телец Гассалья и увеличению относительной площади сосудистого русла. Наибольшие изменения в структуре органа наблюдались на 3-и сутки исследования, что может свидетельствовать о том, что эффекты однократно проведенной ВИЛТ максимально проявляются именно на этом сроке.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Асирян Е. Г., Матющенко О.В., Мацук О.Н. Влияние физических факторов на органы системы иммунитета и возможности их применения с иммунокорригирующей целью // Охрана материнства и детства. 2019. № 2 (34). С. 30–35.
2. Москвин С.В., Хадарцев А.А. Лазерная терапия аппаратами «Матрикс» и «Лазмик». М.; Тверь: Издательство «Триада». 2019. 280 с.
3. Ahmad M.A., Hamid M.S., Yusof A. Effects of low-level and high-intensity laser therapy as adjunctive to rehabilitation exercise on pain, stiffness and function in knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis // *Physiotherapy*. 2021. No. 26. doi:10.1016/j.physio.2021.03.011.
4. Васильев А. П., Стрельцова Н.Н. О механизме клинического эффекта лазерного излучения с позиции теории адаптации // *Лазерная медицина*. 2015. Т. 19, № 1. С. 40–44.
5. Hamblin M.R. Mechanisms and mitochondrial redox signaling in photobiomodulation // *Photochemistry and Photobiology*. 2018. Vol. 94 (2). P. 199–212.
6. Quantum biology in low level light therapy: death of a dogma / A.P. Sommer, P. Schemmer, A.E. Pavláth [et al.] // *Ann Transl Med*. 2020. No. 8 (7). P. 440. doi:10.21037/atm.2020.03.159.
7. Головнева Е.С. Динамика уровня основного фактора роста фибробластов в процессе неоангиогенеза, стимулированного воздействием высокоинтенсивного лазерного излучения // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2002. Т. 134, № 7. С. 109–111.
8. Бугаева И.О., Егорова А.В., Злобина О.В. Кинетика клеточных популяций тимуса под влиянием инфракрасного лазерного излучения // *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2010. Т. 6, № 1. С. 23–26.
9. Anders JJ., Lanzafame RJ., Arany P.R. Low-level light/laser therapy versus photobiomodulation therapy // *Photomed. Laser Surg*. 2015. Vol. 33. P. 183–184.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Информация об авторах

**А.А. Чесноков** – магистр биологических наук, младший научный сотрудник, Многопрофильный центр лазерной медицины, Челябинск, Россия;

**Е.С. Головнева** – доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной физиологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет, заместитель директора по научно-исследовательской работе, Многопрофильный центр лазерной медицины, Челябинск, Россия;

**Г.В. Брюхин** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия.

Статья поступила в редакцию 28.01.2021; одобрена после рецензирования 21.02.2022; принята к публикации 24.02.2022.

The authors declare no conflicts of interests.

## Information about the authors

**A.A. Chesnokov** – Master of Biological Sciences, Junior Researcher, Multidisciplinary Center of Laser Medicine, Chelyabinsk, Russia;

**E.S. Golovneva** – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Normal Physiology, South Ural State Medical University, Deputy Director for Research, Multidisciplinary Center for Laser Medicine, Chelyabinsk, Russia;

**G.V. Bryukhin** – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Histology, Embryology and Cytology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia.

The article was submitted 28.01.2021; approved after reviewing 21.02.2022; accepted for publication 24.02.2022.