

ВЛИЯНИЕ ИГЛОУКАЛЫВАНИЯ НА ДИНАМИКУ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ В ТИМУСЕ

ГУРЬЯНОВА Е.А., к.м.н., доц. каф. восстановительной медицины
ЛЮБОВЦЕВ В.Б., д.м.н., профессор, главный врач клиники РНЦВМ и К
ЛЮБОВЦЕВА Е.В., к.м.н., директор Республиканского центра восстановительной
медицины и реабилитации

ИВАНОВА О.В., ассистент каф. восстановительной медицины Чувашского ГУ
КРОТКОВА О.С., Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова,
г. Чебоксары, Россия E-mail: eagurian@rambler.ru

АННОТАЦИЯ

После однократного иглоукалывания тимус белых крыс как центральный орган иммуногенеза изучали методами люминесцентной и иммунной гистохимии, используя в качестве критериев показатели люминесценции катехоламинов, серотонина и серотонинового индекса. Выявлено, что десятиминутное иглоукалывание в точки LI 11 и GV 14 приводит к увеличению содержания нейромедиаторов в тимоцитах коркового и мозгового вещества и в премедуллярных макрофагах уже через 15 минут после процедуры, а спустя 4 часа их уровень в тимоцитах мозгового вещества и субкапсулярных клетках возвращается к первоначальным показателям. Наибольшее снижение серотонинового индекса отмечалось в тимоцитах коркового и мозгового вещества через 2 часа после иглоукалывания.

Ключевые слова: катехоламин, серотонин, иглоукалывание, тимус, тучные клетки.

ВВЕДЕНИЕ

Тимус является важным звеном кооперации нейроэндокринной и иммунной систем. Иммунорегуляторными факторами, обеспечивающими функции тимуса, наряду с цитокинами и тимическими гормонами, являются нейромедиаторы: катехоламины, гистамин, серотонин [1]. Известно, что акупунктура относится к методам, восстанавливающим иммунный статус, причем иммуномодулирующий эффект акупунктуры во многом реализуется изменением активности тимуса [2]. По данным литературы, некоторые методы акупунктуры способствуют замедлению инволюции тимуса [3]. В этом плане интересен вопрос ранних изменений нейромедиаторных структур тимуса, обуславливающих дальнейшие клинические эффекты, возникающие при воздействии иглоукалыванием (ИУ).

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявление динамики катехоламинов и серотонина, а также серотонинового индекса в структурах тимуса после ИУ в точки акупунктуры (ТА) LI 11 (дистальную точку общего действия) и GV 14 (дорсальную точку общего действия). Выбор данных ТА объясняется тем, что их с глубокой древности используют для повышения устойчивости организма к действию экстремальных факторов и даже для продления жизни [4].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Люминесцентно-гистохимическим методом Фалка-Хилларпа [5] для выявления катехоламинов и серотонина, а также иммуногистохимическим мето-

дом для выявления нейроэндокринных клеток был исследован тимус 38 белых крыс-самцов массой 180-200 г, взятый после ИУ в симметричные ТА LI 11 и GV 14. Выделяли следующие группы: 1-я – интактная – без воздействия ИУ (N=5); 2-я – контрольная – воздействие акупунктурной иглой в течение 10 минут рядом с ТА, где электрокожное сопротивление (ЭКС) составляет более 100 кОм (N=4); 3-я – крысы, которым воздействовали стальными иглами в течение 10 минут в вышеуказанные ТА, где ЭКС составляет 55-65 кОм (N=28). Тимус извлекали в глубокой стадии эфирного наркоза через 15 минут, 1, 2, 4 часа после ИУ. Известно, что концентрация биогенных аминов в клетках тимуса подвержена сезонным колебаниям с наиболее их высоким содержанием весной [6]. Учитывая этот факт, мы попытались исключить влияние сезонности, поэтому все эксперименты проводились в одно и то же время суток в весенний период.

Соотношение серотонина и катехоламинов или серотониновый индекс (I_s) вычислялся по формуле:

$$I_s = \sum \frac{[C]}{[KA]} / N,$$

где [C] – уровень серотонина, [KA] – уровень катехоламинов, N – число наблюдений. По динамике уровней нейротрансмиттеров не всегда можно достоверно судить об их влиянии на интегральную биоаминную обеспеченность органа. По серотониновому индексу можно судить о преобладании в клетке серотонина ($I_s > 1$) или катехоламинов ($I_s < 1$). Статистическую обработку данных проводили с помощью компьютера «Pentium» с использованием стандартного пакета программ. Степень достоверности определяли по t-критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У интактных животных в центре долек тимуса выявляется темное мозговое вещество, не содержащее гранулярных люминесцирующих клеток (ГЛК). В корковом веществе, расположенном по периферии дольки, рассеяны мелкие субкапсулярные ГЛК. На границе между корковым и мозговым веществом располагаются цепочкой более крупные ГЛК, окружающие мозговое вещество в виде кольца (рис. 1а). Известно, что ГЛК премедуллярной зоны являются местными продуцентами нейромедиаторов, а ГЛК субкапсулярной зоны – аминокложающими структурами [6, 7]. Если субкапсулярные ГЛК определен-

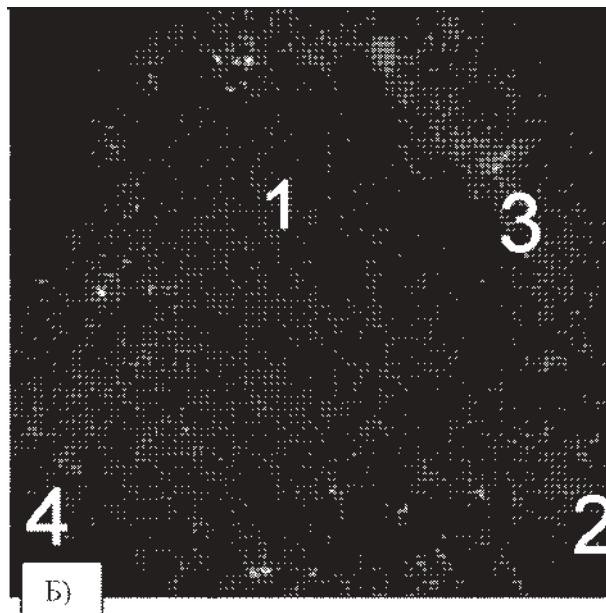
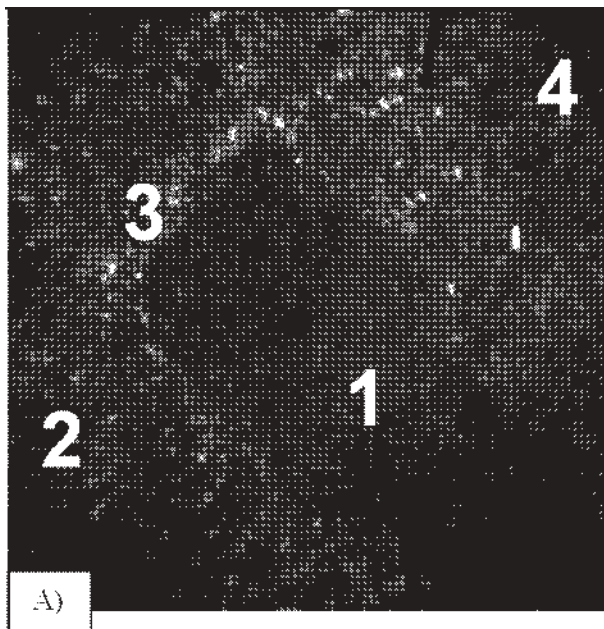


Рис. 1. Люминесцентная картина тимусной долики а) до иглоукалывания; б) через 15 минут после иглоукалывания: 1 – мозговое вещество, 2 – корковое вещество, 3 – премедуллярные клетки, 4 – субкапсулярная зона. Метод Фалька. Микроскоп ЛЮОММ. Ок. 10, об. 20.

но имеют макрофагальную природу, то часть премедуллярных ГЛК проявляет свойства клеток АПУД-системы, что подтвердилось параллельной окраской срезов иммуногистохимическим методом. Премедуллярные ГЛК значительно крупнее субкапсулярных ($D_{cp} = 13,7 \pm 0,65$ мкм), большинство имеют неправильную полигональную форму, хотя встречаются клетки правильной округлой формы. Ядра премедуллярных ГЛК не просматриваются. Люминесценция моноаминов в них ярко-желтая с оранжевым оттенком. Средняя интенсивность свечения серотонина в ГЛК премедуллярной зоны фиксируется на уровне $65,05 \pm 0,7$ у.е., катехоламинов – на уровне $52,11 \pm 0,6$ у.е., а в ГЛК субкапсулярной зоны – $122,10 \pm 3,25$ у.е. и $80,11 \pm 0,80$ соответственно. В септах и иногда в субкапсулярной зоне выявляется небольшое количество люминесцирующих тучных клеток. Тучные клетки выделяют медиаторы, тем самым регулируя проницаемость сосудов и облегчая рециркуляцию и миграцию образовавшихся тимоцитов, а также содержат гепарин, участвующий в инактивации биоаминов.

Под воздействием ИУ содержание моноаминов в структурах тимуса изменилось. Через 15 минут после ИУ граница между корковым и мозговым веществом тимуса стирается, хотя в некоторых местах сохраняется цепочка премедуллярных ГЛК меж-

ду ними. В субкапсулярной зоне число ГЛК увеличивается и достигает 12-15 в о.п.з (рис. 1б).

Число телец Гассала у крыс в наших экспериментах составляло 1,5-1,8 для каждой долики и не отличалось для интактной и опытной групп животных. Однако на этом сроке мы зарегистрировали достоверное повышение в них уровня моноаминов в 1,5 раза. В настоящее время известно, что тельца Гассала влияют на процессы антигенпрезентации, индукции апоптоза, синтеза и утилизации биоаминов [8]. Повидимому, в данном случае тельца Гассала являются адсорбентами моноаминов и могут участвовать в регуляции дифференцировки Т-лимфоцитов.

Содержание нейромедиаторов в тимоцитах коркового и мозгового вещества через 15 минут после ИУ статистически достоверно ($p < 0,05$) увеличилось примерно в 7 раз, по сравнению с их содержанием у интактных крыс. В ГЛК премедуллярной зоны уровень моноаминов вырос в 1,5-2 раза по сравнению с первоначальными показателями, в ГЛК субкапсулярной зоны – практически на том же уровне (табл.). Содержание нейромедиаторов в адренергических нервных волокнах повысилось в 1,2 раза. Увеличилась выявляемость адренергических волокон. По литературным данным, катехоламины активируют иммунокомпетентные клетки за счет стимуляции генной транскрипции и увеличения синтеза РНК, повышая хелперный эффект Т-лимфоцитов, являются модуляторами продукции ИЛ-1, активируют региональные иммунные ответы [9]. Поэтому увеличе-

Таблица.

Содержание катехоламинов, серотонина (у.е.) и серотониновый индекс (I_s) в структурах тимуса крыс до и после иглоукалывания (ИУ) через 15 минут, 1 ч, 2 ч и 4 ч.

	Интактная группа крыс (n=5)			Через 15 минут после ИУ (n=7)			Через 1 ч после ИУ (n=7)			Через 2 ч после ИУ (n=7)			Через 4 ч после ИУ (n=7)		
	КА	С	I_s	КА	С	I_s	КА	С	I_s	КА	С	I_s	КА	С	I_s
Тимоциты коркового вещества	6,01 $\pm 0,3$	8,95 $\pm 0,1$	1,49	43,17 $\pm 3,53^*$	61,33 $\pm 3,05^*$	1,42	28,70 $\pm 1,43^*$	39,71 $\pm 3,46^*$	1,38	15,01 $\pm 0,58^*$	19,67 $\pm 0,95^*$	1,33	13,01 $\pm 0,75^*$	18,01 $\pm 0,70^*$	1,38
Тимоциты мозгового вещества	4,03 $\pm 0,1$	6,05 $\pm 0,1$	1,50	29,50 $\pm 2,38^*$	40,20 $\pm 2,3^*$	1,36	26,38 $\pm 1,31^*$	30,86 $\pm 1,5^*$	1,17	18,63 $\pm 1,57^*$	20,71 $\pm 1,22^*$	1,11	8,04 $\pm 0,4^*$	11,67 $\pm 0,5^*$	1,45
ГЛК премедуллярной зоны	52,11 $\pm 0,6$	65,05 $\pm 0,7$	1,25	89,60 $\pm 5,5^*$	126,60 $\pm 6,33^*$	1,41	93,01 $\pm 4,65^*$	127,5 $\pm 6,37^*$	1,37	29,10 $\pm 1,55^*$	39,55 $\pm 1,73^*$	1,36	20,75 $\pm 1,57^*$	28,50 $\pm 2,15^*$	1,37
ГЛК субкапсулярной зоны	80,11 $\pm 0,80$	122,10 $\pm 3,25$	1,53	73,80 $\pm 3,65$	121,44 $\pm 2,50$	1,65	75,07 $\pm 3,15$	102,20 $\pm 6,35^{**}$	1,36	21,01 $\pm 1,7$	33,50 $\pm 1,95^*$	1,60	14,60 $\pm 1,15^*$	21,80 $\pm 1,10^*$	1,49

Примечание: * $p < 0,01$, ** $p < 0,05$ характеризует достоверность по отношению к интактной группе животных. субкапсулярных клетках постепенно возвращается к первоначальным показателям

ние содержания катехоламинов в цитоструктурах тимуса после ИУ косвенно доказывает его иммуностимулирующий эффект.

По прошествии 1 часа после иглоукалывания концентрация исследуемых биологически активных субстанций в тимоцитах коркового и мозгового вещества начинает убывать. В ГЛК субкапсулярной и премедуллярной зон содержание исследованных аминов остается на прежнем уровне. Через 2 часа концентрация моноаминов в тимоцитах коркового и мозгового вещества продолжает постепенно снижаться, в ГЛК субкапсулярной зоны – резко снижается, а в ГЛК премедуллярной зоны возвращается к значениям нейромедиаторов у интактных животных. Содержание катехоламинов в адренергических нервных волокнах увеличивается в 1,4 раза, число их остается на том же уровне.

По истечении 4 часов после процедуры в некоторых долях тимуса начинает восстанавливаться граница между корковым и мозговым веществом: вновь появляется цепочка из премедуллярных клеток. Концентрация нейромедиаторов в тимоцитах коркового и мозгового вещества продолжает снижаться, однако еще не достигает первоначальных показателей. Число субкапсулярных ГЛК уменьшается, однако превышает исходные данные. В ГЛК субкапсулярной и премедуллярной зон наблюдается спад содержания моноаминов.

В контрольной группе крыс реакции цитоструктур тимуса резко отличались от опытной. Чаще в первый момент они были разнонаправлены и явились ответом организма на инъекционный стресс, что совпадает с данными Нестерина К.В. [10].

Анализируя показатели серотонинового индекса, мы выявили, что структуры тимуса интактной группы крыс имели значения от 1,33 до 1,53, различающиеся в зависимости от исследуемой структуры. Наибольший I_s наблюдался в ГЛК субкапсулярной зоны тимуса – 1,53. Иглоукалывание в исследуемые ТА изменило соотношение между нейромедиаторами: через 15 минут после ИУ I_s достоверно уменьшается в лимфоцитах премедуллярной зоны с 1,5 до 1,36.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, полученные данные о динамике нейромедиаторов в тимусе являются свидетельством того, что акупунктура в ТА LI 11 и GV 14 вызывает значительное перераспределение моноаминов в структурах тимуса. Однократное иглоукалывание вызывает миграцию ГЛК в субкапсулярную зону уже через 15 минут после ИУ. Увеличение содержания катехоламинов и серотонина в премедуллярных клетках свидетельствует о начале усиленной выработки нейромедиаторов. Увеличение выявляемости адренергических волокон говорит об активации периферического звена вегетативной нервной системы [11, 12]. Усиление аминоксинтезирующей функции ГЛК премедуллярной зоны продолжается в течение часа после процедуры, а потом постепенно снижается.

Снижение серотонинового индекса в лимфоцитах свидетельствует об относительном уменьшении серотонина в клетках. Поскольку известно, что серотонинергическая система активирует супрессорную активность, а также контролирует скорость пролиферации иммунокомпетентных клеток, то можно предполагать, что снижение серотонина в лимфоцитах будет способствовать иммунопролиферативным процессам.

ВЫВОДЫ

1. В премедуллярных клетках и тимоцитах коркового и мозгового вещества через 15 мин. после иглоукалывания содержание катехоламинов и серотонина увеличивается.

2. Наибольшее снижение серотонинового индекса отмечается в тимоцитах коркового и мозгового вещества через 2 часа после иглоукалывания.

3. Спустя 4 часа после проведенного ИУ уровень моноаминов в тимоцитах мозгового вещества постепенно возвращается к первоначальным показателям.

4. Полученные данные показывают наличие иммуностимулирующего компонента акупунктуры, проявляющегося в первый час и сохраняющегося до 4 часов после однократного иглоукалывания в точки акупунктуры GV 14 и LI 11.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кветной И.М. Нейроиммунноэндокринология тимуса // – Санкт-Петербург.: Изд-во ДЕАН. – 2005. – 175 с.
2. Табеева Д.М. Иглоукалывание // М.: Издательство «ПАТМОС». – 1999. – 470 с.
3. Zhang L., Chen H.P., Wang H.J. The anti-aging effect of moxibustion and moxibustion combined with skin allograft evaluated from optic and electron microscopy study of thymus and pituitary glands // *Acupunct Electrother Res.* – 1996. – Vol. 21, № 2. – P. 93-104.
4. Воргалик В.Г., Воргалик В.М. Основы традиционной восточной рефлексодиагностики и пунктурной адаптационной терапии // М., ГОУ ВУНМЦ. – 2001. – 336 с.
5. Falck B., Hillarp N.A., Thieme G., Torp A. // *J. Histochem. Cytochem.* – 1962. – Vol. 10. – P. 348-354.
6. Ястребова С.А., Сергеева В.Е. Механизмы гидрокортизоновой иммуномодуляции биоаминовой клеточной системы тимуса // Чебоксары. 2000. – 83 с.
7. Любовецкая Л.А. Люминесцентно-гистохимическое исследование аминоксинтезирующих структур костного мозга, тимуса и крови при действии нейромедиаторов и антигенов // Чебоксары. – 1993. – 91 с.
8. Беловешкин А.Г., Стельмах И.А. // *Морфология.* – 2007. – Т. 129, № 4. – С. 22.
9. Девойно Л.В. Физиология иммунного гомеостаза. – Ростов-на-Дону. – 1983. – С. 59-65.
10. Нестерин К.В. Люминесцентно-гистохимическое исследование тимуса и костного мозга после акупунктуры: Автореф. дисс. на соискание уч. степени к.м.н. – Саранск, 2007. – 24 с.
11. Lundberg T., Eriksson S.V., Theodorsson E. Neuroimmunomodulatory effects of acupuncture in mice. // *Neurosci Lett.* – 1991. – Vol 128, № 2. – P. 161-164.
12. Fujiwara R., Tong Z.G., Matsuoka H., Shibata H., Iwamoto M., Yokoyama M.M. Effects of acupuncture on immune response in mice // *Int. J. Neurosci.* – 1991. – Vol. 57, № 1-2, – P. 141-150.

РЕЗЮМЕ

Изменения в биоаминсодержащих структурах тимуса белых крыс под влиянием однократного иглоукалывания в клинически эффективные точки LI 11 и GV 14 были изучены методами люминесцентной и иммунной гистохимии. В качестве критериев использовали показатели люминесценции катехоламинов и серотонина, а также серотониновый индекс. Выявлено, что десятиминутное иглоукалывание приводит к увеличению содержания катехоламинов в тимоцитах коркового и мозгового вещества и в премедуллярных клетках уже через 15 минут после иглоукалывания, а спустя 4 часа уровень моноаминов в тимоцитах мозгового вещества и субкапсулярных клетках постепенно возвращается к первоначальным показателям.

ABSTRACT

The changes in the bioamine compound structures of the white rats thymus after acupuncture in acupuncture points GV 14 and LI 11 have been studied from the methods of the luminescent and immune histochemistry by using figures of the luminescent catecholamines and serotonin and also the serotonin index in ones capacity of criteria.

The acupuncture has been carried out into the clinical effective acupuncture points LI 11 and GV 14. It was found in 15 minutes ten-minutes-acupuncture results in the increase of the content of the catecholamines and serotonin in the thymocytes of the cortical and brain substances and in the pre-medullary cells. After 4 hours of the experiment the level of the monoamine in the thymocytes of the brain substances and in subcapsular cells by degrees return to initial figures.