

**ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
НА МОРФОЛОГИЮ ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ОРГАНОВ И КРОВИ ИНДЮШАТ**

Н. А. ДУБИНА, М. В. ШАЛАК

УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»,
г. Горки, Могилевская обл., Республика Беларусь, 213407

В. Ю. ПЛАВСКИЙ

Институт физики имени Б. И. Степанова НАН РБ,
г. Минск, Республика Беларусь, 220072

И. Н. ГРОМОВ

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

(Поступила в редакцию 24.01.2017)

Резюме. В статье приводятся результаты исследований морфологии паренхиматозных органов и крови индюшат под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения. Установлено, что обработка индюшат поляризованным полихроматическим светом не оказывает влияния на гематологические показатели, морфологию печени, поджелудочной железы, почек и сердца.

Ключевые слова: индюшата, лазерное излучение, печень, поджелудочная железа, почки, сердце.

Summary. This article presents the results of research in morphology of parenchymatous organs and blood of turkey under the influence of low level laser radiation. It has been established that treatment of turkey chicks with polarized polychromatic light has no effect on hematological parameters, morphology of the liver, pancreas, kidneys and heart.

Key words: Turkey chicks, laser radiation, liver, pancreas, kidney, heart.

Введение. В настоящее время большой интерес представляют исследования, направленные на поиск альтернативных методов повышения естественной резистентности и реактивности иммунной системы птицы. Иммунная система является одной из самых сложных в организме и, несмотря на несомненные успехи в области иммунологии, до настоящего времени не решен вопрос об особенностях реакции на фотовоздействие иммунокомпетентных органов, тканей и клеток [1].

Сегодня все больше внимания уделяется поддержанию здоровья птицы, и в этом отношении роль иммунной системы трудно переоценить. Поэтому проведение исследований по выяснения молекулярных механизмов функционирования иммунной системы растет в геометрической прогрессии.

В организме птицы обнаруживается более 30 млрд лимфоцитов, около 10 млрд гранулоцитов, более 1 млрд естественных киллерных клеток (больших зернистых лимфоцитов) и почти столько же макрофагов. При этом следует иметь в виду, чем выше сложность иммунной системы, тем труднее поддерживать ее в рабочем состоянии и тем выше требования к обеспечению данной системы всем необходимым. Именно поэтому в условиях стресса иммунная система страдает, как правило, первой.

В этом отношении задача ветеринарных специалистов и зоотехнической службы хозяйств – найти эффективные меры поддержания иммунной системы в условиях стресса. Одним из ведущих направлений современной иммунологии является применение физического воздействия на организм низкоинтенсивного лазерного излучения. Экспериментальные научные исследования, проведенные в последние годы, свидетельствуют о возможности избирательного воздействия на отдельные этапы развития организма животного в целом при использовании лазерного излучения [4, 7, 8].

Изменение иммунной реактивности организма под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения может являться важным звеном в реализации положительного эффекта иммунной системы. В последние годы в изучении механизмов регуляции иммунной системы достигнуты значительные успехи. Вместе с тем до настоящего времени не решен вопрос об особенностях реакции на фотовоздействие

иммунокомпетентных клеток, расположенных в различных органах иммунной системы индюшат. Кроме того, влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на неиммунные органы остается неизученным.

Цель работы – изучение морфологии паренхиматозных органов и крови здоровых индюшат под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения.

Материал и методика исследований. Экспериментальная часть работы по изучению влияния поляризованного низкоинтенсивного лазерного излучения света на морфологию паренхиматозных органов и крови индюшат выполнена в 2014 г. в лаборатории кафедры патологической анатомии и гистологии УО ВГАВМ, а также в условиях РУП «Племптицезавод Белорусский».

Исследования были проведены на 20 индюшатах 1-дневного возраста, подобранных по принципу аналогов и разделенных на 2 группы по 10 птиц в каждой. Индюшат 1-й (опытной) группы подвергали воздействию поляризованным лазерным излучением инфракрасной области спектра $\lambda=808$ нм. Исследования осуществлялись с помощью лазерного терапевтического аппарата «Сенс 815», созданного в Институте физики имени Б. И. Степанова НАН Белоруссии на базе полупроводникового лазера. Технические характеристики аппарата «Сенс 815» обеспечивали возможность воздействия лазерного излучения в непрерывном режиме, время облучения – 60 секунд, средняя мощность излучения составляла $W = 50 \pm 5$ мВт.

Поляризованное излучение направляли в область шеи индюшонка, длительность экспозиции – 1 минута. Обработку проводили 1-кратно, в 1-дневном возрасте. Интактные индюшата 2 группы служили контролем. За птицей обеих групп было установлено клиническое наблюдение.

В 7- и 19-дневном возрасте от 5 индюшат опытной и контрольной групп отбирали пробы крови для морфологического исследования. В эти же сроки по 5 индюшат из каждой группы убивали. Для гистологического исследования отбирали селезенку, печень, поджелудочную железу, почки и сердце.

При проведении исследований кровь получали из яремной вены [2]. Для морфологических исследований ее стабилизировали ее гепарином (2,0–2,5 Ед./мл). Содержание гемоглобина в крови определяли гемоглобинцианидным методом с использованием наборов НТК «Анализ-Х» и прибора ФЭК-М. Количество эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов подсчитывали в счетной камере с сеткой Горяева после разведения крови в разбавителе, приготовленном на основе фосфатного буфера [2].

Мазки крови птиц готовили на тонких обезжиренных предметных стеклах, высушивали на воздухе, фиксировали в метаноле и окрашивали по Романовскому–Гимза [5]. Лейкограмму выводили на основании подсчета 100 клеток.

Кусочки органов фиксировали в 10 %-м растворе нейтрального формалина и жидкости Карнуа. Зафиксированный материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятой методике [6]. Обезвоживание и парафинирование кусочков органов проводили с помощью автомата для гистологической обработки тканей «MICROM STP 120» (Германия) типа «Карусель». Для заливки кусочков и подготовки парафиновых блоков использовали автоматическую станцию «MICROM EC 350». Гистологические срезы кусочков органов, залитых в парафин, готовили на санном микротоме. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин–эозином и по Браше. Депарафинирование и окрашивание гистосрезов проводили с использованием автоматической станции «MICROM HMS 70».

В гистологических срезах железы почек, печени, поджелудочной железы, сердца, окрашенных по общепринятым методикам, определяли морфологию органа, выявляли соотношение их основных тканевых и клеточных компонентов.

Гистологические исследования проводили с помощью светового микроскопа «Биомед-6» (Россия). Полученные данные документированы микрофотографированием с использованием цифровой системы считывания и ввода видеоизображения «ДСМ-510», а также программного обеспечения по вводу и предобработке изображения «ScopePhoto».

Цифровые данные обработаны статистически с использованием программы Microsoft Excel 2003.

Результаты исследований и их обсуждение. При гематологическом исследовании было установлено (табл. 1; рис. 1, 2), что под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения в 7-дневном возрасте содержание лейкоцитов в крови индюшат опытной группы составило $26,00 \pm 4,49 \times 10^9$ /л ($P < 0,05$), что достоверно выше, а в контрольной группе соответственно $17,50 \pm 1,12 \times 10^9$ /л. В 19-дневном возрасте содержание лейкоцитов в крови индюшат опытной группе составило $19,50 \pm 1,69 \times 10^9$ /л ($P < 0,05$), а в контрольной группе составило $20,00 \pm 1,69 \times 10^9$ /л, это практически одинаковые показатели.

Таблица 1. Гематологические показатели индюшат (M+m, P)

Показатели	7-дневный возраст		19-дневный возраст	
	1 группа	2 группа	1 группа	2 группа

	(опытная)	(контрольная)	(опытная)	(контрольная)
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$26,00 \pm 4,49$ $P_{1-2} > 0,05$	$17,50 \pm 1,12$	$19,50 \pm 1,69$ $P_{1-2} > 0,05$	$20,00 \pm 1,69$
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	$60,00 \pm 3,93$ $P_{1-2} > 0,05$	$52,50 \pm 2,22$	$35,50 \pm 3,93$ $P_{1-2} > 0,05$	$38,00 \pm 8,43$



Рис. 1. Морфология клеток крови 7-дневного индюшонка контрольной группы в счетной камере Горяева.
Разведение 1:200. Биомед-6. Микрофото. Ув. х 120
1 – сетка камеры Горяева; 2 – эритроциты; 3 – тромбоциты; 4 – лейкоциты

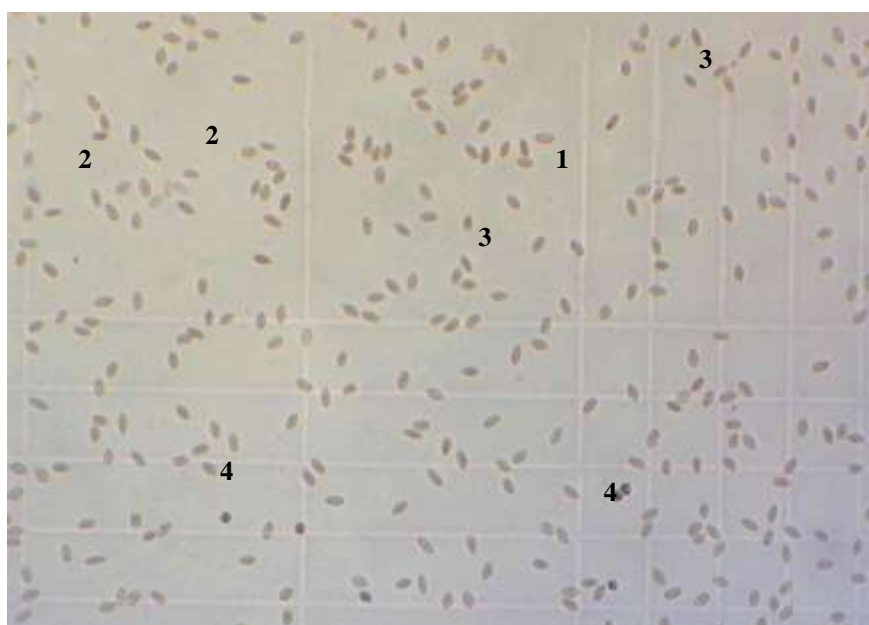


Рис. 2. Микровид форменных элементов крови 7-дневного индюшонка опытной группы в счетной камере Горяева.
Разведение 1:200. Биомед-6. Микрофото. Ув. х 120
1 – сетка камеры Горяева; 2 – эритроциты; 3 – тромбоциты; 4 – лейкоциты

Сходные изменения были установлены при изучении содержания тромбоцитов в крови птиц обеих групп. Вместе с тем установлено, что под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения в 7-дневном возрасте содержание тромбоцитов в крови индюшат опытной группы составило $60,00 \pm 3,93 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,05$), а в контрольной группе соответственно $52,50 \pm 2,22 \times 10^9/\text{л}$, что достоверно выше. В 19-дневном возрасте содержание тромбоцитов в крови индюшат контрольной группы составило $38,00 \pm 8,43 \times 10^9/\text{л}$, а в опытной группе $35,50 \pm 3,93 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,05$) причем разница была достоверной.

Во все сроки исследований показатели лейкограммы птиц 1-й и 2-й групп были примерно одинаковыми (табл. 2; рис. 3–6). Вместе с тем, в процессе проведения исследований установлено, что под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения в 7-дневном возрасте индюшат лейкограмма несколько различалась. Содержание базофилов, эозинофилов в крови индюшат опытных групп были практически одинаковыми.

Таблица 2. Лейкограмма индюшат ($M \pm m, P$)

Показатели	7-дневный возраст		19-дневный возраст	
	1 группа (опытная)	2 группа (контрольная)	1 группа (опытная)	2 группа (контрольная)
Базофилы	0,50±0,28 $P_{1-2}>0,05$	0,50±0,28	0,25±0,28 $P_{1-2}>0,05$	0,50±0,28
Эозинофилы	8,50±3,09 $P_{1-2}>0,05$	8,50±1,97	9,75±0,56 $P_{1-2}>0,05$	9,00±0,56
Псевдоэозинофилы юные	2,75±0,28 $P_{1-2}>0,05$	2,25±0,84	2,75±0,56 $P_{1-2}>0,05$	3,75±0,84
Псевдоэозинофилы палочкоядерные	2,00±1,12 $P_{1-2}>0,05$	2,50±1,12	4,00±0,84 $P_{1-2}>0,05$	3,75±1,12
Псевдоэозинофилы сегментоядерные	20,25±2,25 $P_{1-2}>0,05$	15,84±0,56	23,75±1,97 $P_{1-2}>0,05$	18,50±1,97
Т-лимфоциты	45,25±6,46 $P_{1-2}>0,05$	50,75±1,97	38,50±1,69 $P_{1-2}>0,05$	41,00±2,81
В-лимфоциты	19,50±3,09 $P_{1-2}>0,05$	19,00±0,56	20,75±3,09 $P_{1-2}>0,05$	21,75±1,97
Моноциты	1,25±0,56 $P_{1-2}>0,05$	1,50±0,84	1,50±0,28 $P_{1-2}>0,05$	1,75±1,12



Рис. 3. Морфологическая картина мазка крови интактного индюшонка 7-дневного возраста. Окраска по Романовскому–Гимза. Биомед–6. Микрофото. Ув. х 900
1 – эритроциты; 2 – псевдоэозинофилы; 3 – эозинофил

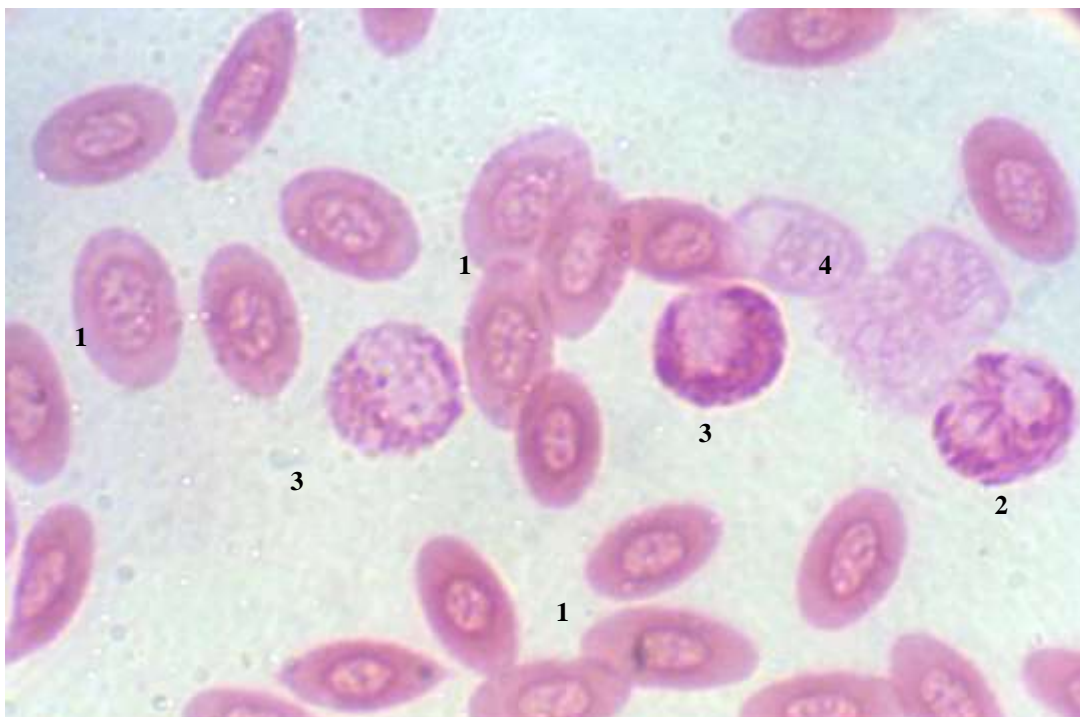


Рис. 4. Мазок крови подопытного индюшонка 7-дневного возраста. Окраска по Романовскому–Гимза. Биомед–6. Микрофото. Ув. x 900
1 – эритроциты; 2 – псевдозозинофил; 3 – эозинофилы; 4 – тромбоциты

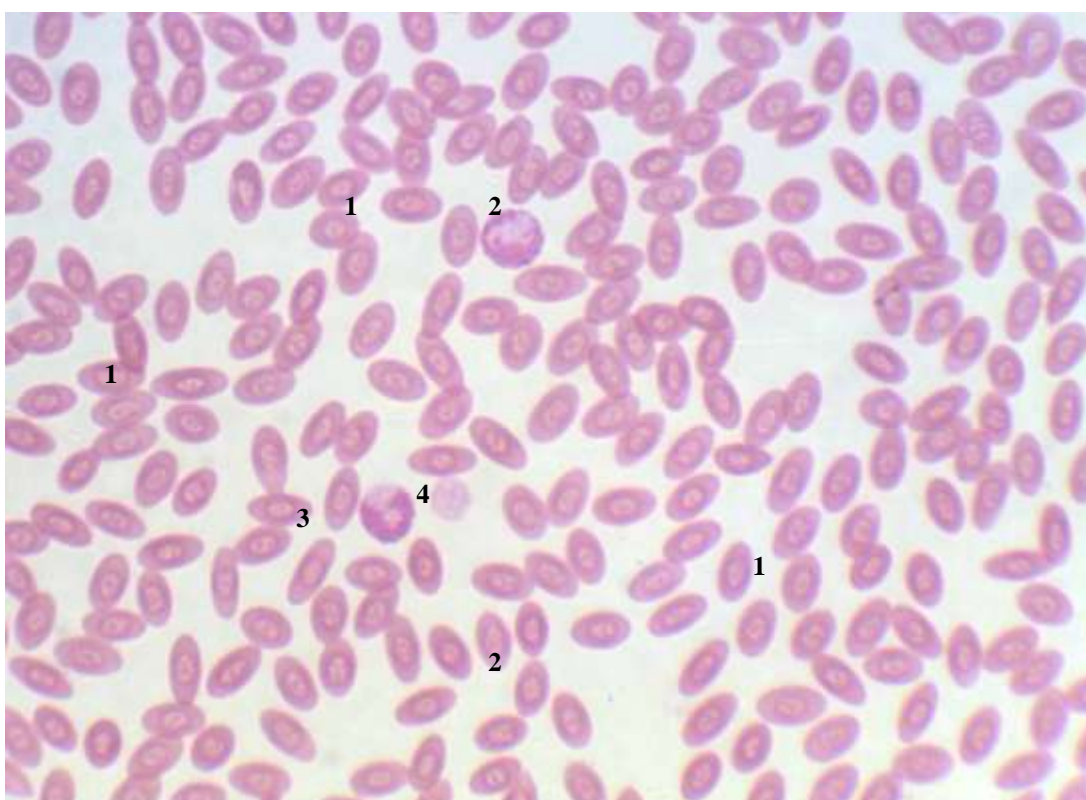


Рис. 5. Мазок крови 19-дневного индюшонка контрольной группы. Окраска по Романовскому–Гимза. Биомед–6. Микрофото. Ув. x 480
1 – эритроциты; 2 – псевдозозинофил; 3 – эозинофил; 4 – лимфоцит

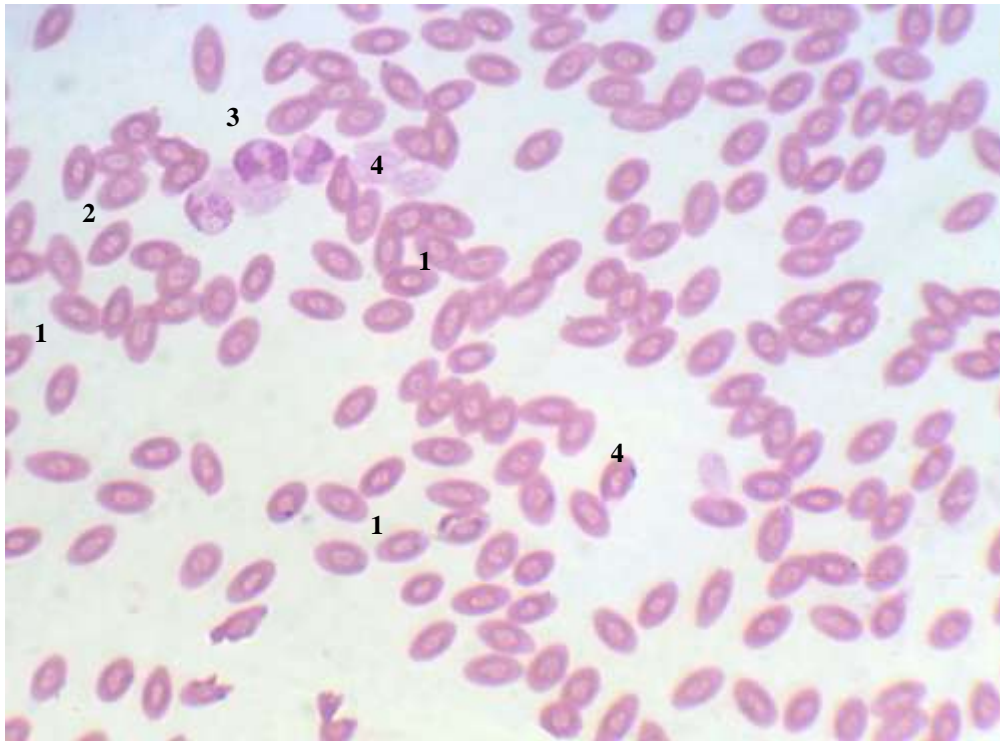


Рис. 6. Мазок крови 19-дневного индюшонка опытной группы. Окраска по Романовскому–Гимза. Биомед–6. Микрофото. Ув. х 480
1 – эритроциты; 2 – псевдоэозинофил; 3 – эозинофилы; 4 – тромбоциты

В тоже время содержание Т-лимфоцитов в крови индюшат опытной группе в количестве $45,25 \pm 6,46 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,05$), а в контрольной группе несколько выше и составило соответственно $50,75 \pm 1,97 \times 10^9/\text{л}$. Содержание В-лимфоцитов в крови индюшат контрольной группы составило $19,00 \pm 0,56 \times 10^9/\text{л}$, а в опытной группе соответственно $19,50 \pm 3,09 \times 10^9/\text{л}$, что выше на 2,6 %.

Кроме того, установлено, что под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения в 7-дневном возрасте содержание моноцитов в крови индюшат контрольной группы составило $1,50 \pm 0,84 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,05$), а в опытной группе – $1,25 \pm 0,56 \times 10^9/\text{л}$.

В 19-дневном возрасте содержание Т-лимфоцитов в крови индюшат опытной группе в количестве $38,50 \pm 1,69 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,05$), а в контрольной группе несколько выше и составило $41,00 \pm 2,81 \times 10^9/\text{л}$. Содержание В-лимфоцитов в крови индюшат контрольной группы составило $21,75 \pm 1,97 \times 10^9/\text{л}$, а в опытной группе – $20,75 \pm 3,09 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,05$) причем разница была достоверной. В этом возрасте содержание моноцитов в крови индюшат контрольной группы составило $1,75 \pm 1,12 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,05$), а в опытной группе – $1,50 \pm 0,28 \times 10^9/\text{л}$.

При макроскопическом исследовании **печени** интактных и подопытных индюшат 7- и 19-суточного возраста существенных изменений выявлено не было. Орган не был увеличен в размере, форма не изменена, консистенция упругая, цвет темно-коричневый, рисунок дольчатого строения на разрезе не выражен.

Гистологическое исследование печени интактных индюшат 7- и 19-суточного возраста показало, что снаружи орган был покрыт тонкой соединительнотканной перегородкой. Признаков формирования междольковых соединительнотканых перегородок не выявлено. Элементы соединительной ткани выявлялись лишь в области печеночных триад. В триадах присутствовали артерия, вена и желчевыводящий проток.

Паренхима долек была представлена системой печеночных балок, представляющих собой последовательно расположенные два, три ряда гепатоцитов, имеющих кубическую форму, умеренно вакуолизированную цитоплазму и округлое ядро. Балки, разветвляясь, анастомозировали между собой и образовывали балочные сети. Желчные капилляры представляли собой едва различимый каналец, стенку которого формировали соседние гепатоциты. Между балками располагались синусоидные капилляры, заполненные кровью. У индюшат 7-дневного возраста выявлялись единичные, небольших размеров очаги эмбрионального кроветворения, представленные группами из 10–15 клеток (лимфоциты, гранулоциты). При гистологическом исследовании печени 7- и 19-дневных индюшат существенных гистологических изменений выявлено не было.

Поджелудочная железа интактных и подопытных индюшат во все сроки исследований имела нормальную величину и форму, упругую консистенцию, желто-розовый цвет, слабо выраженный дольчатый рисунок на разрезе. При микроскопическом исследовании поджелудочной железы 7- и 19-дневных птиц обеих групп существенных структурных изменений в строме, ацинусах и островках Лангерганса выявлено не было.

Итак, обработка индюшат поляризованным полихроматическим светом не оказывает влияния на макро- и микроструктуру самых крупных застенных желез пищеварительной системы – печени и поджелудочной железы.

При макроскопическом исследовании **почек** интактных и подопытных птиц в течение эксперимента существенных изменений не регистрировалось: орган имел нормальную величину и форму, упругую консистенцию, красно-коричневый цвет. Гистологическое исследование **почек** птиц контрольной группы показало, что снаружи орган покрыт тонкой соединительнотканной капсулой из плотной неоформленной ткани.

Выявлялись небольших размеров сосудистые клубочки, окруженных капсулой Шумлянско-го. Эпителий мочеобразующих канальцев кубический с выраженной вакуолизацией. Мочеобразующие канальцы были представлены высоким эпителием с мутной цитоплазмой и щеточной каемкой. Межканальцевые прослойки мощные, состоят из нескольких слоев фибробластов. Присутствует множество капилляров и венул. Собираательные трубочки представлены одним слоем крупных вакуолизированных клеток. Существенных гистологических изменений в почках подопытных индюшат 7- и 19-дневного возраста не выявлено.

При макроскопическом исследовании **сердца** индюшат 1-й и 2-й групп во все сроки исследований не наблюдалось. Форма сердца анатомически правильная, коническая. Орган не увеличен в размере, перикард и эпикард ненабухшие, влажные, гладкие, блестящие, прозрачные. Коронарные сосуды выделяются четко. Миокард развит нормально, имеет красно-коричневый цвет, рисунок волокнистого строения на разрезе нечеткий. В полостях сердца присутствует свернувшаяся кровь. Эндокард влажный, гладкий, блестящий, полупрозрачный. Сердечные клапаны и сухожильные нити без наложений и повреждений.

При гистологическом исследовании сердца интактных индюшат контрольной группы установлено, что сердечная ткань представлена кардиомиоцитами, которые имеют одно или два ядра и небольшую толщину. Ядра удлиненные, хорошо очерченные, содержат конденсированный хроматин. Цитоплазма оксифильная, интенсивно окрашенная, исчерченность мало заметна. В эндо- и перемизии присутствует значительное количество жировых клеток, залегающих рядами вдоль тел кардиомиоцитов. Капилляры небольших размеров, умеренно кровенаполнены.

При исследовании сердечной мышцы 7- и 19-дневных индюшат опытной группы гистологических изменений не обнаружено.

Заключение. Таким образом, обработка индюшат поляризованным низкоинтенсивным лазерным излучением не оказывает влияния на гематологические показатели, морфологию печени, поджелудочной железы, почек и сердца. В месте с тем под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения во все сроки выращивания индюшат их лейкограмма несколько различалась.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биофизика живых систем: от молекулы к организму / Е. В. Барковский [и др.]. – Минск: Белээнс, 2002. – С. 73–86.
2. Болотников, И. А. Гематология птиц / И. А. Болотников, Ю. В. Соловьев. – Л.: Наука, 1980. – 115 с.
3. Гоноцкий, В. А. Судьба индейки / В. А. Гоноцкий, Л. П. Федина // Мясная индустрия. – №3. – 1006. – С. 39–42.
4. Карпуть, И. М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных / И. М. Карпуть. – Минск: Ураджай, 1986. – 183 с.
5. Кару, Т. Исследование влияния степени поляризации лазерного излучения на стимуляцию клеточного метаболизма / Т. Кару // Лазерная медицина, 2008. – Т. 12. – № 1. – С. 4–8.
6. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия: пер. с англ. / Р. Лилли; ред. В. В. Португалов; пер. И. Б. Краснов [и др.]. – М.: Мир, 1969. – 645 с.
7. Мостовников, В. А. Влияние лазерного излучения на кровь / В. А. Мостовников, Г. Р. Мостовникова. – Киев, 1989. – С. 193–195.
8. Султанова, А. Н. Влияние лазерного излучения низкой интенсивности на функциональное состояние клеток иммунной системы / А. Н. Султанова, Д. А. Черенков, О. В. Глушкова // Вестник РГМУ. – №3 (34). – 2004. – С. 188.