

Министерство образования и науки Российской Федерации

УДК
ГРНТИ
Инв. №

УТВЕРЖДЕНО:
Исполнитель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина»
От имени Руководителя организации _____/_____ М.П.

НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКИЙ ОТЧЕТ

о выполнении 3 этапа Государственного контракта
№ П1083 от 24 августа 2009 г. и Дополнению от 18 марта 2010 г. № 2/П1083,
Дополнению от 28 июля 2010 г. № 3, Дополнению от 23 октября 2009 г. № 1/П1083,
Дополнению от 05 марта 2011 г. № 4

Исполнитель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина»

Программа (мероприятие): Федеральная целевая программа «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг., в рамках реализации мероприятия № 1.3.1 Проведение научных исследований молодыми учеными - кандидатами наук.

Проект: Роль иммунной системы в регуляции физиологической и репаративной регенерации забарьерных органов

Руководитель проекта:

_____/Янович Семен Владимирович
(подпись)

Екатеринбург
2011 г.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

по Государственному контракту П1083 от 24 августа 2009 и Дополнению от 18 марта 2010 г. № 2/П1083, Дополнению от 28 июля 2010 г. № 3, Дополнению от 23 октября 2009 г. № 1/П1083, Дополнению от 05 марта 2011 г. № 4 на выполнение поисковых научно-исследовательских работ для государственных нужд

Организация-Исполнитель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина»

Руководитель темы:

кандидат биологических наук, без ученого звания

_____ Янович С. В.
подпись, дата

Исполнители темы:

кандидат биологических наук, без ученого звания

_____ Храмцова Ю. С.
подпись, дата

без ученой степени, без ученого звания

_____ Бриллиант С. А.
подпись, дата

без ученой степени, без ученого звания

_____ Гафарова Р. К.
подпись, дата

Реферат

Отчет 53 с., 1 ч., 10 рис., 0 табл., 76 источн., 0 прил.

регенерация_1 , забарьерный орган_2 , лимфоциты_3 , макрофаги_4 , иммунокорректоры_5

В отчете представлены результаты исследований, выполненных по 3 этапу Государственного контракта № П1083 "Роль иммунной системы в регуляции физиологической и репаративной регенерации забарьерных органов" (шифр "НК-193П") от 24 августа 2009 по направлению "Фундаментальная медицина и физиология" в рамках мероприятия 1.3.1 "Проведение научных исследований молодыми учеными - кандидатами наук.", мероприятия 1.3 "Проведение научных исследований молодыми учеными - кандидатами наук и целевыми аспирантами в научно-образовательных центрах", направления 1 "Стимулирование закрепления молодежи в сфере науки, образования и высоких технологий." федеральной целевой программы "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" на 2009-2013 годы.

Цель работы - изучение роли иммунной системы в регуляции физиологической и репаративной регенерации забарьерных органов.

В процессе работы были использованы следующие методы: метод целенаправленного воздействия на разные звенья иммунной системы с помощью иммунокоркторов, гистологические, морфометрические, иммуногистохимические, статистические.

Микроскоп Биолам Р-11; Лазерный анализатор микрочастиц «Ласка 1К»; Спектрофотометр СФ-46; Термостат; рН метр; Весы лабораторные; Весы аналитические; Ресурсы научной библиотеки УрГУ, Свердловской областной научной библиотеки им. В.Г. Белинского, Российской государственной библиотеки; Подготовка коммерческого предложения и конкурсной документации по приобретению нового оборудования.

Материалы экспериментальных исследований, раскрывающие содержание работ по решению поставленных научно-исследовательских задач (объем 3 п.л.), включая:

- аналитический отчет о проведении экспериментальных исследований;
- отчет по обобщению и оценке результатов исследований;
- модели и методы, позволяющие увеличить объем знаний для более глубокого понимания изучаемого предмета исследования и пути применения новых явлений, механизмов или закономерностей.

Заключение экспертной комиссии по открытому опубликованию.

Копии 2 статей, опубликованных в журнале ВАК с обязательной ссылкой на проведение НИР в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-

педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 годы.
Проведен анализ и обобщение результатов экспериментальных исследований 1 и 2 этапа. Определено, что роль отдельных звеньев иммунной системы (Т-, В-лимфоцитов, макрофагов) в регуляции репаративной регенерации различных забарьерных органов существенно отличается. Так, стимуляция макрофагов приводит к активации восстановительных процессов в иммунопривилегированных органах, а стимуляции лимфоцитов, наоборот, к замедлению.

Содержание

Введение.....	6
1 Аннотированная справка по научным результатам НИР, полученным на предыдущих этапах.....	10
1.1 Исследование репаративной регенерации семенника.....	12
1.2 Исследование репаративной регенерации щитовидной железы.....	15
1.3 Исследование репаративной регенерации глаза.....	18
1.4 Иммуногистохимический анализ.....	21
2 Аналитический отчет о проведении экспериментальных исследований.....	24
2.1 Иммунная регуляция репаративной регенерации семенника.....	24
2.2 Иммунная регуляция репаративной регенерации щитовидной железы.....	26
2.3 Иммунная регуляция репаративной регенерации глаза.....	30
3 Отчет по обобщению и оценке результатов исследований.....	34
4 Публикации результатов НИР.....	39
Заключение.....	45
Список использованных источников.....	46

Введение

Исследователи уже давно обратили внимание на способность иммунной системы влиять на репаративные процессы. Однако первоначально этот эффект связывали с повреждающим действием гуморальных антител на стареющие и измененные клетки. Это послужило основой использования цитотоксических сывороток в эксперименте и клинике для целенаправленного воздействия на регенерацию органов и тканей.

Качественно новое развитие теория иммунологической регуляции восстановительных процессов получает в 60-е годы, когда было доказано, что наряду с цензорной функцией иммунная система обладает и морфогенетической. В последние годы это направление приобретает все большее признание и распространение [1,2,3,4,5,6,7]. Наиболее детально изучена морфогенетическая функция лимфоцитов. Известно, что уже интактные клетки обладают морфогенетической активностью.

Однако эффект выражен больше у лимфоцитов животных с повреждением какого-либо органа. Малые лимфоциты оперированных животных в условиях адоптивного переноса побуждают нелимфоидные клетки неоперированного реципиента к делению, причем преимущественно в том органе, который поврежден у оперированного донора. Исследование этого явления, названного феноменом передачи «регенерационной информации», было начато работами А.Г. Бабаевой.

В активирующем регенерацию эффекте иммунной системы существенная роль отводится Т-супрессорам. По мнению А.Г. Бабаевой при удалении ткани органа (любой вариант оперативного вмешательства) имеет место снижение функции или числа Т-супрессоров, на фоне которого происходит стимуляция других популяций лимфоцитов, размножение лимфоидных клеток в селезенке и лимфатических узлах, которое обеспечивает усиление пролиферативных процессов не только клеток лимфоидного ряда, но и других тканевых систем. Имеющиеся данные

указывают на то, что реализация морфогенетической функции лимфоцитами происходит аналогично реализации их иммунологической активности за счет клеточных контактов [8,9] и продукции лимфокинов.

Имеются отдельные указания, что в регуляции регенераторного процесса принимают участие не только лимфоциты, но и другие элементы иммунной системы. Так, на моделях частичной гепатэктомии и кровопотери удалось установить, что в регуляции восстановительных процессов особую роль играют макрофаги. Кроме этого, была предложена гипотеза о существовании 2-х механизмов, с помощью которых лимфоциты могут передавать регенераторный стимул: макрофагзависимый и макрофагnezависимый. Установлено, что для разных механизмов восстановительного процесса (клеточных или внутриклеточных) необходимы различные элементы иммунной системы. Так, активация Т-лимфоцитов стимулирует внутриклеточные процессы регенерации, а макрофагов – клеточные [10].

На участие нейтрофилов в регуляции регенераторного процесса указывают И. И. Долгушин и О. В. Бухарин [3], которые на модели адоптивного переноса показали, что перитонеальные нейтрофилы интактных мышей F₁ (СВА×С57ВL) при трансплантации сингенным животным со стандартной ожоговой травмой (25-30 % поверхности тела) заметно ускоряет эпителизацию раны. Этот стимулирующий эффект авторы связывают с секретлируемыми нейтрофилами низкомолекулярными пептидами.

Таким образом, в настоящее время уже показано, что разные элементы иммунной системы принимают участие в регуляции регенераторного процесса. Однако большинство работ посвящено изучению морфогенетической функции иммунной системы при повреждении обычных органов (печень, почки, легкие, сердце, тонкий кишечник, кроветворная ткань). Между тем особо остро стоит проблема иммунологической регуляции регенерации физиологически изолированных органов или так называемых забарьерных тканей: глаз, щитовидная железа, семенники. Во многом она

определяется двумя особенностями этих тканей: 1- в эмбриогенезе они закладываются позднее иммунной системы и 2- наличие гистогематического барьера в физиологических условиях надёжно их изолирует от иммунной системы.

В настоящее время уже показано, что иммунологическая регуляция регенерации этих тканей отличается от таковой для других тканей организма. При повреждении тех или других в крови появляются антитела. [4] Но, в отношении, так называемых, забарьерных органов в организме не возникает состояния естественной иммунологической толерантности в силу того, что их окончательная антигенная дифференцировка осуществляется уже в период завершения развития системы иммуногенеза. Нарушение барьеров физиологически изолированных органов, которые предохраняют их антигены от контакта с иммунокомпетентными клетками, вызываемое оперативным вмешательством, приводит к стимуляции лимфоидного аппарата, сопровождающейся образованием специфических аутоантител, направленных против антигенов этого органа. Предполагают что в результате аутоагрессии, вызванной этими антителами, происходит полная гибель органа, что служит причиной отсутствия его регенерации. Однако рядом авторов доказана возможность регенерации этих органов при участии в этом сложном процессе иммунной системы [5] и соответственно требуют своей расшифровки механизмы этого процесса.

Все вышеизложенное свидетельствует о том, что определение механизмов иммунной регуляции регенерации забарьерных тканей является актуальной научной проблемой и требует целенаправленных специальных исследований.

Целью данного проекта является изучение роли иммунной системы в регуляции физиологической и репаративной регенерации забарьерных органов.

Для решения данной цели на 3 этапе перед нами были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать возможность использования иммунокорректоров в качестве восстанавливающей терапии при повреждении забарьерных органов
2. Проанализировать и обобщить результаты экспериментальных исследований 1 и 2 этапа
3. Оценить полноту решения задач и достижения поставленных целей
4. Дать рекомендации по использованию результатов НИР при разработке научно-образовательных курсов и включить результаты НИР в читаемые курсы лекций

1 Аннотированная справка по научным результатам НИР, полученным на предыдущих этапах

В ходе выполнения данной научно-исследовательской работы были проведены эксперименты по исследованию роли исходного состояния иммунной системы, а также ее отдельных звеньев (Т- и В-лимфоцитов, макрофагов) в регуляции физиологической и репаративной регенерации забарьерных органов (семенники, щитовидная железа, глаз). Для этого был использован метод целенаправленного воздействия на разные звенья иммунной системы с помощью различных иммунокорректоров.

Исследования проводились на белых беспородных крысах. Для оценки роли исходного состояния иммунной системы и ее отдельных звеньев: Т-, В-лимфоцитов и макрофагов в регуляции репаративной регенерации забарьерных органов были использованы следующие препараты: полиоксидоний в дозе 0,15 мг/кг ежедневно внутримышечно курсом 5 инъекций (общая активация иммунной системы), тимодепрессин в дозе 0,02 мг/кг 0,1 % раствора ежедневно внутримышечно в течение 7 дней (иммуносупрессия), тактивин в дозе 2 мкг/кг подкожно ежедневно курсом 5 инъекций (активация Т звена), миелопид в дозе 0,1 мг/кг подкожно ежедневно курсом 5 инъекций (активация В звена) и галавит в дозе 2 мг/кг внутримышечно через день курсом 5 инъекций (активация макрофагального звена) [75].

Состояние регенераторных процессов в различных забарьерных органах изучали на модели индуцированной (репаративной) регенерации. В целом, все экспериментальные животные в условиях опыта были распределены на 4 основные группы:

1. интактные животные
2. экспериментальная группа – крысы, которым под общим наркозом была проведена субтотальная резекция обеих долей щитовидной железы на фоне введения разных иммунокорректоров.
3. экспериментальная группа – крысы, которым было проведено

повреждение одного из семенников на фоне введения разных иммунокорректоров. Повреждение семенника наносили путём прокола иглой диаметром 3 мм под общим наркозом.

4. экспериментальная группа – крысы, которым проводилась лазерная коагуляция сетчатки одного глаза на фоне введения разных иммунокорректоров. Коагуляты наносили в нижнем квадранте глазного дна с помощью лазера DTL-324QT (Laser Compact group) с длительностью импульсов 10 нс и частотой импульсов 10 кГц.. Для получения зеленого света использовали элемент для преобразования длины волны излучения на основе ниобата лития с периодической структурой (элемент разработан в Лаборатории оптической микроскопии Уральского центра коллективного пользования «Современные нанотехнологии» Уральского государственного университета им. А.М. Горького). Мощность излучения составила 135 мВт с длиной волны 532 нм, длительность воздействия составила 1 секунду. Операция проводилась под общим наркозом

Общий наркоз во всех экспериментальных группах проводили с помощью препаратов золетил 100 (0,02 мл/кг) и ксилазин (0,15мл/кг) внутримышечно.

Для оценки общего состояния у всех экспериментальных животных производился забор крови из хвостовой вены. Анализ периферической крови проводили с помощью гематологического анализатора Celly 70 Biocode Nusel. Кроме этого, была подсчитана лейкограмма.

Для оценки состояния иммунной системы при регенерации исследовали селезенку, тимус и костный мозг. При исследовании селезенки и тимуса определяли вес целого органа и проводили подсчет его клеточности. Для этого брали небольшой кусок селезенки или весь тимус известной массы, измельчали его и смешивали с 5 мл. 3% уксусной кислоты, пропуская через иглы уменьшающегося диаметра. Затем в камере Горяева проводили подсчет ядер клеток. В последующем показатель пересчитывали на всю

массу органа. Кроме этого, определяли коэффициент массы селезенки – масса селезенки, приходящаяся на 1г. массы тела животного.

Во всем костном мозге бедренной кости крысы определяли общее количество миелокариоцитов. Для этого весь костный мозг бедренной кости с помощью резинового баллона выдували на часовое стекло. Затем его разводили 3% уксусной кислотой, доводя до объема 2 мл. Готовили суспензию клеток, пропуская через иглы уменьшающегося диаметра. Полученную взвесь доводили до объема 5 мл 3% уксусной кислотой. Подсчет количества клеток проводили в камере Горяева. Кроме этого, проводили подсчет миелограммы на 400 клеток, при этом была использована номенклатура клеток, соответствующую современной схеме кроветворения [76]. Для этого готовили мазки костного мозга, которые окрашивали по Нохту.

1.1 Исследование репаративной регенерации семенника

Исследования проводились на 12 сутки после прокола семенника. Крыс выводили из эксперимента путём передозировки наркоза. При этом измеряли такие показатели, как масса крысы, масса лимфоидных органов (селезёнка, тимус), масса семенников.

Яички взвешивали без придатков и затем фиксировали в 10% растворе формалина. Для гистологических исследований брали оба яичка. После фиксации яички разрезали поперёк на две половины. Из каждой половины вырезали по одной пластинке, которые затем промывали в водопроводной воде в течение двух часов. Далее проводили по стандартной проводке. После заливки в парафиновые блоки готовили срезы толщиной 3-5 мкм на микротоме. Полученные срезы окрашивали гематоксилин-эозином, по методу Браше.

Препараты изучали под микроскопом и оценивали следующие показатели: диаметр семявыносящего канальца, площадь поперечного сечения семенного канальца, средний индекс сперматогенеза, среднее число

сперматогоний в канальце, сперматоцитограмма, количество слущенных канальцев, количество лимфоцитов в канальцах семенника.

Производили измерение диаметра десяти семенных канальцев окуляр - микрометром. Площадь поперечного сечения семенных канальцев определяли по формуле $S=\pi d^2/4$. Для оценки состояния сперматогенного эпителия подсчитывали средний индекс сперматогенеза, который производили из расчёта на 25 канальцев, на поперечном срезе семенника по 4-х бальной системе (с учётом количества слоёв эпителиальных клеток в каждом канальце). Если в одном канальце имеется 4 слоя семяродного эпителия: сперматогонии, сперматоциты 1-го и 2-го порядка, сперматиды и зрелые сперматозоиды с хвостами, то этот каналец получает оценку 4 балла, если в канальце первые 3 слоя – 3 балла, если 2 слоя – 2 балла и т.д. Средний индекс сперматогенеза определяли по формуле $J=\sum a/A$, где J- индекс сперматогенеза; а- количество слоёв сперматогенного эпителия, обнаруженных в каждом канальце; А - количество подсчитанных канальцев. Кроме того, определяли среднее количество нормальных сперматогоний и число канальцев со слущенным эпителием, (расчёт производили на 100 канальцев). Подсчёт сперматоцитограммы производили путём деления общего числа зародышевых клеток различных типов (сперматогонии, сперматоциты, сперматиды и поздние сперматиды) на общее число клеток Сертоли в тех же полях.

Окраску срезов на лимфоциты проводили по методу Браше. Окрашивание срезов проводили по стандартной схеме с использованием приготовленного красителя. Подсчет количества лимфоцитов в каждом семеннике производили в $S = 0,01 \text{ мм}^2$, а затем пересчитывали на 1 мм^2 .

Для изучения влияния иммунной системы на репаративную регенерацию семенника были проведены эксперименты с проколом одного из парных семенников на фоне активации определенных звеньев иммунной системы. Были получены следующие результаты.

Масса семенников у группы животных, получавших миелопид,

достоверно увеличивается по сравнению с массой семенников интактных животных, причем происходит увеличение массы как поврежденного, так и интактного органа. У крыс, получавших тактивин или галавит, напротив масса обоих семенников снижается по сравнению, как с контрольной группой, так и с животными, лечеными миелопидом. Таким образом, при активации В-звена иммунной системы наблюдается гипертрофия обоих семенников, а при активации Т-звена или макрофагов, наоборот, уменьшение их массы.

При анализе гистологических показателей семенника выявлено, что при повреждении наблюдается уменьшение диаметра и площади поперечного сечения семенного канальца. При этом растет индекс сперматогенеза. Данные изменения происходят как в поврежденном, так и интактном органах. При введении любого из использованных препаратов отмечается увеличение диаметра и площади поперечного сечения семенного канальца также обоих семенников. Однако при введении миелопида наблюдается уменьшение индекса сперматогенеза и числа сперматогоний, в то время как при введении тактивина и галавита снижение индекса происходит только в поврежденных семенниках, а число сперматогоний резко увеличивается. Количество лимфоцитов в семенниках при повреждении не отличается от этого показателя у интактных животных. А вот при введении препаратов отмечается их повышение.

Масса селезенки при проколе семенника в контроле достоверно увеличивается по сравнению с интактными животными. На фоне введения препаратов миелопид и тактивин картина остается такой же. То есть масса селезенки увеличена. При введении же галавита масса селезенки снижается по сравнению с контролем и достигает показателей интактных животных. При этом как в контроле, так и у всех групп крыс, получавших иммунокорректоры, увеличивается клеточность селезенки по сравнению с интактными.

Масса тимуса достоверно увеличивается только у животных,

получавших миелопид до прокола семенника, по сравнению как с интактными крысами, так и в контроле.

При проколе семенника отмечается снижение гематокритного показателя, при неизменных остальных показателях красной крови. При введении миелопида по сравнению с контролем растет гемоглобин и гематокритный показатель. У животных, получавших тактивин, происходят те же изменения, что и при введении миелопида, к которым добавляется уменьшение объема эритроцитов и содержание гемоглобина в них. При введении галавита снижается количество эритроцитов.

Со стороны белой крови при повреждении семенника отмечается лейкоцитоз, который происходит за счет увеличения числа лимфоцитов и моноцитов. У животных, леченных миелопидом, отмечаются те же изменения за исключением лишь еще большего увеличения количества моноцитов в крови. При введении тактивина или галавита по сравнению с контролем снижается общее число лейкоцитов за счет лимфоцитов и моноцитов, а вот количество гранулоцитов при этом увеличивается.

1.2 Исследование репаративной регенерации щитовидной железы

Исследование проводили на 7 сутки после субтотальной резекции обеих долей щитовидной железы. Животных выводили из эксперимента путем передозировки наркоза. При этом измеряли такие показатели, как масса крысы, масса лимфоидных органов (селезёнка, тимус).

Для макроскопического исследования проводили выделение щитовидной железы. Проводилось взвешивание органа. Для гистологического исследования брали фрагменты щитовидной железы, фиксировали их в 10% нейтральном формалине. После заливки в парафин приготавливались срезы толщиной 5 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином.

Морфометрический анализ размеров структурных образований щитовидной железы и ее клеточный состав у интактных и опытных животных проводили методом точечного счета (Г.Г. Автандилов, 1990) с использованием

бинокулярного микроскопа. Для оценки морфо-функционального состояния щитовидной железы окуляр-микрометром измеряли следующие показатели: диаметр фолликула, мкм (в не менее 100 фолликулах), диаметр ядра, мкм (в не менее 100 фолликулах), высота тиреоидного эпителия, мкм (в не менее 40 фолликулах). В поле зрения подсчитывали количество интерфолликулярных островков.

Кроме этого, были определены расчетные показатели, характеризующие морфофункциональное состояние щитовидной железы:

1. Просвет-эпителиальный индекс (ПЭИ)

$$\text{ПЭИ} = d_{\phi}/h, \text{ где}$$

d_{ϕ} – внутренний диаметр фолликула

h – высота тиреоидного эпителия.

2. Показатель накопления коллоида (ПНК) – отношение внутреннего диаметра фолликула к удвоенной толщине его стенки

$$\text{ПНК} = d_{\phi}/(2 \cdot h)$$

3. Ядерный индекс (ЯИ) – определение объемов ядер тиреоцитов

$$\text{ЯИ} = \pi/6 \cdot d_{\text{я}}^2, \text{ где}$$

$d_{\text{я}}$ – диаметр ядра

Изучение десквамации эпителия проводилось подсчетом количества десквамированных клеток на 1 фолликул (не менее 100 фолликулов) с определением относительного объема десквамированного эпителия в процентах.

Оценивали лимфоцитарную инфильтрацию стромы щитовидной железы путем подсчета количества лимфоцитов на $S = 0,01 \text{ мм}^2$, а затем пересчитывали на 1 мм^2 .

Полученные данные свидетельствуют, что масса сохранившейся части щитовидной железы через 7 суток после резекции увеличивается в группе контрольных животных и крыс, леченных галавитом. В то время как у крыс, получавших миелопид, никаких изменений с массой оставшейся после операции не происходит, а у животных, получавших тактивин, эта масса

уменьшается.

Щитовидная железа у клинически здоровых крыс состоит из фолликулов округлой, овальной и угловатой формы. Стенка фолликулов образована из тироцитов кубической формы, расположенных на базальной мембране. Ядро тироцитов округлой формы, хроматин распределяется гомогенно и окрашивается базофильно. Цитоплазма окрашивается оксифильно. В полости фолликулов располагается коллоид, окрашивающийся также оксифильно. Между фолликулами, в межфолликулярной рыхлой соединительной ткани, довольно часто встречаются интерфолликулярные островки.

При резекции щитовидной железы происходит увеличение диаметра ядер тироцитов и высоты тиреоидного эпителия. При активации различных звеньев иммунной системы иммунокорректорами уменьшается диаметр фолликулов и ядер, растет количество интерфолликулярных островков. Высота тиреоидного эпителия при этом уменьшается при введении тактивина и галавита, не изменяется при введении миелопида.

По полученным результатам были установлены расчетные показатели, характеризующие морфофункциональное состояние щитовидной железы. При резекции щитовидной железы происходит увеличение ядерного индекса по сравнению с интактными животными. При введении миелопида наблюдается снижение всех представленных расчетных показателей. При введении тактивина отмечается та же самая картина только по сравнению с интактными животными. При этом просвет-эпителиальный индекс и показатель накопления коллоида не изменяются по сравнению с контролем. При введении галавита происходит снижение ядерного индекса.

Со стороны иммунной системы при резекции щитовидной железы наблюдается увеличение массы, клеточности селезенки и тимуса, кроме этого увеличивается клеточность костного мозга. При введении миелопида отмечается также увеличение массы и клеточности селезенки. Масса тимуса не изменяется, при этом наблюдается повышение ее клеточности.

Клеточность костного мозга снижается как по сравнению с интактными животными, так и по сравнению с контролем. При введении тактивина происходит также увеличение массы селезенки и ее клеточности, при этом при неизменной массе тимуса отмечается снижение его клеточности. В костном мозге резко растет клеточность. При введении галавита в селезенке и костном мозге наблюдаются те же самые изменения, что и в контроле. А вот в тимусе происходит снижение массы и клеточности.

При резекции щитовидной железы наблюдается снижение числа эритроцитов по сравнению с интактными животными. Те же изменения происходят и при введении миелопида. У крыс, получавших тактивин, отмечается уменьшение среднего объема эритроцитов, а также среднего содержания гемоглобина в эритроците. При введении галавита никаких изменений в показателях красной крови отмечено не было.

Что же касается показателей белой крови, то при резекции щитовидной железы отмечается лейкоцитоз, при этом увеличивается количество и лимфоцитов, и моноцитов, и гранулоцитов. При введении миелопида наблюдается та же картина. У животных, получавших тактивин или галавит, отмечаются те же изменения, но показатели растут в меньшей степени по сравнению с контролем.

1.3 Исследование репаративной регенерации глаза

Исследования проводили на 7 сутки после лазерной коагуляции сетчатки одного глаза. Животных выводили из эксперимента путем передозировки эфира. При этом измеряли такие показатели, как масса крысы, масса лимфоидных органов (селезенка, тимус), масса поврежденного и интактного глаза.

Для гистологического исследования брали оба глаза и фиксировали их в 10% формалине. После фиксации промывали водой, проводили по стандартной проводке и заливали в парафиновые срезы. На микротоме готовили срезы толщиной 5 мкм и окрашивали гематоксилин-эозином.

Окрашенные срезы оценивали качественно и количественно с применением светового микроскопа. С помощью окулярной измерительной сетки Автандилова определяли удельную площадь слоев сетчатки. Для этого вычисляли соотношение числа точек, приходящихся на каждый слой, к общему количеству точек, приходящихся на сетчатку в целом. На срезах определяли количество нейросенсорных клеток с деструкцией ядра, приходящихся на 1000 клеток в каждой сетчатке, численную плотность ядер – в наружном ядерном слое сетчатки. Кроме этого, оценивали лимфоцитарную инфильтрацию сетчатки путем подсчета количества лимфоцитов на $S = 0,01 \text{ мм}^2$, а затем пересчета на 1 мм^2 .

В ходе экспериментов по изучению репаративной регенерации сетчатки глаза после лазерной коагуляции были получены следующие результаты.

При повреждении одного из глаз наблюдается достоверное снижение массы обоих органов. При введении любого из использованных иммунокорректоров достоверных отличий по сравнению с контролем выявлено не было.

При исследовании срезов сетчатки подопытных крыс в поврежденных глазах наблюдали участки дегенерации, соответствующие нанесенным лазером коагулятам. Нарушалась архитектура всех слоев сетчатки, сопровождающаяся разрушением и дезорганизацией фоторецепторного слоя, нейронов в наружном и внутреннем зернистых слоях. При введении полиоксидония в поврежденных глазах наблюдалось нарушение архитектуры фоторецепторного слоя даже на участках сетчатки, не поврежденных воздействием лазера. При введении же тимодепрессина на препаратах сетчатки наблюдалось уменьшение дегенеративных процессов, при этом на тех ее участках, которые не были повреждены лазером, наблюдали сохранение структуры слоя палочек и колбочек, а также участков с наличием пигментных клеток.

При анализе размеров различных слоев сетчатки достоверно показано уменьшение толщины всей сетчатки и фоторецепторного слоя по сравнению с интактными животными, как в контрольной группе, так и на фоне введения полиоксидония. Также имеется тенденция к истончению остальных слоев. После лазерной коагуляции во втором (интактном глазу) при введении полиоксидония толщина сетчатки также уменьшается. При введении тимодепрессина также наблюдалось уменьшение толщины сетчатки в поврежденных глазах, но меньше по сравнению с контролем. Толщина фоторецепторного и наружного зернистого слоя в поврежденных глазах достоверно больше по сравнению с контролем. Показатели сетчатки при введении тимодепрессина в не поврежденных глазах не отличаются от интактных животных.

Со стороны иммунной системы при лазерной коагуляции сетчатки глаза происходит ряд характерных изменений. Полученные данные показывают, что по сравнению с интактными животными, происходит увеличение коэффициента массы селезенки, при уменьшении ее клеточности. Увеличивается масса тимуса и клеточность костного мозга. На фоне активированной иммунной системы увеличивается коэффициент массы селезенки, при этом клеточность снижается меньше, чем в контроле, по сравнению с интактными животными. Происходит нормализация показателей массы тимуса и клеточности костного мозга, которые достоверно не отличаются от показателей интактных животных. У животных после введения тимодепрессина уменьшается клеточность тимуса и селезенки по сравнению с интактными животными, это можно объяснить избирательным воздействием препарата на Т-лимфоциты. При этом клеточность костного мозга уменьшается по сравнению с контролем: это объясняется влиянием тимодепрессина на предшественники гемопоэза в костном мозге.

Анализ периферической крови показал, что после повреждения сетчатки происходит понижение количества эритроцитов, снижение

процентного содержания гематокрита, а также увеличение числа гранулоцитов, что объясняется результатом воспалительной реакции в ответ на повреждение сетчатки. Активация иммунной системы способствует меньшему снижению числа эритроцитов, но не влияет на развитие лейкоцитоза.

1.4 Иммуногистохимический анализ

Было проведено иммуногистохимическое окрашивание срезов с использованием моноклональных антител Anti-Rat CD3. Данные моноклональные антитела позволяют выявить Т-лимфоциты. В качестве контроля окрашивали ткани селезенки и тимуса. На следующих рисунках представлены результаты этого анализа.

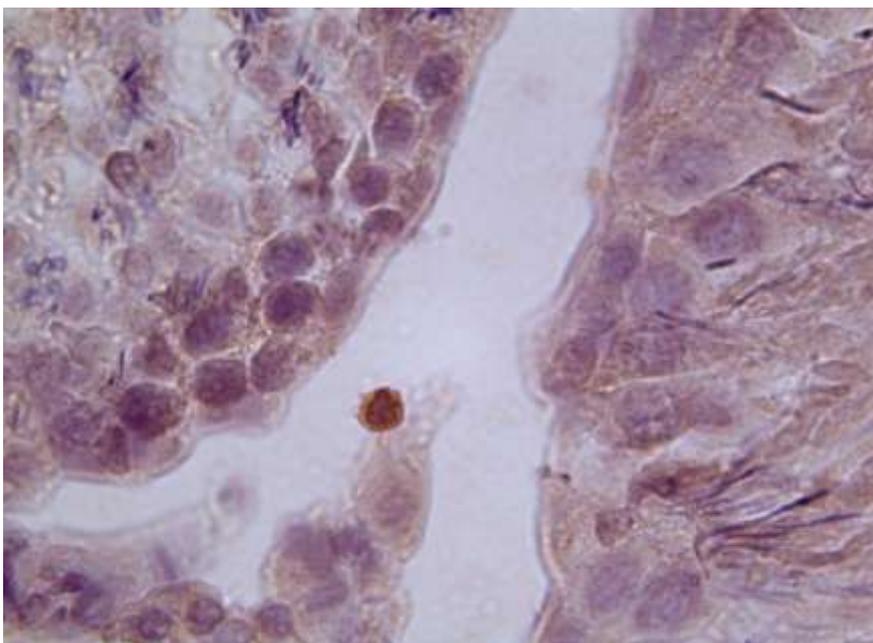


Рисунок 1 – Препарат поврежденного семенника крысы. Иммуногистохимическая окраска Т-лимфоцитов Anti-Rat CD3

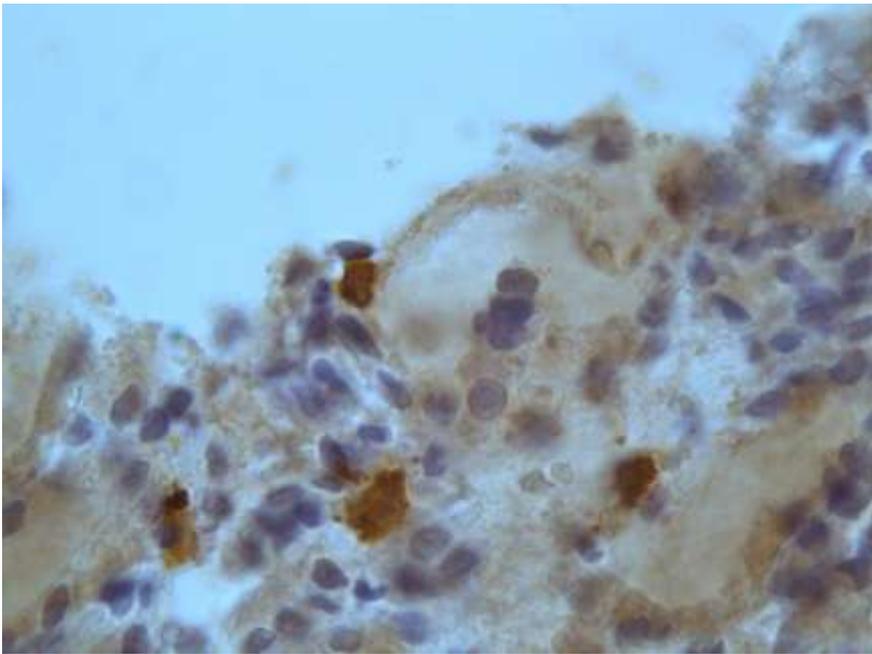


Рисунок 2 – Препарат поврежденной щитовидной железы. Иммуногистохимическая окраска Т-лимфоцитов Anti-Rat CD3

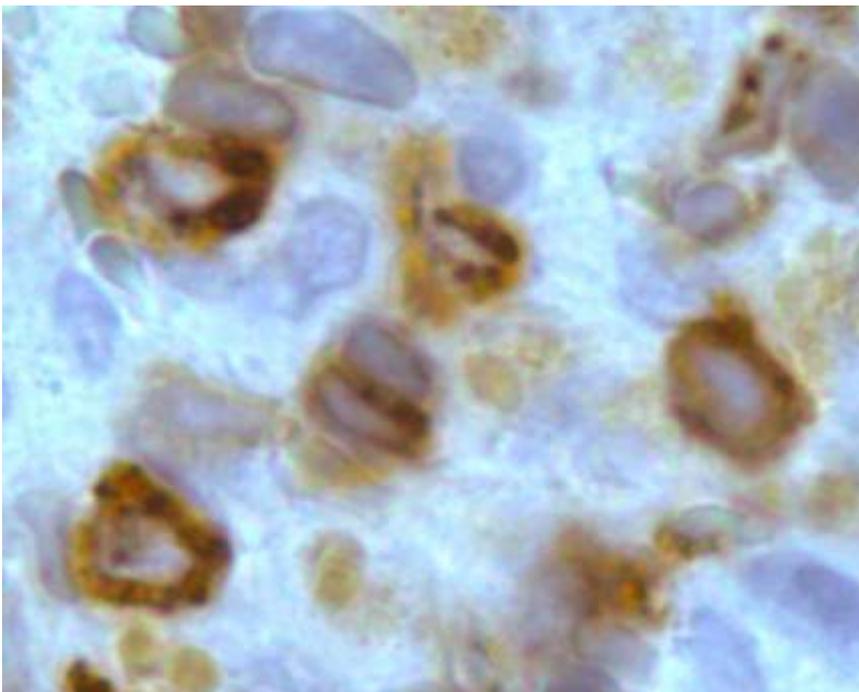


Рисунок 3 – Препарат интактной селезенки. Иммуногистохимическая окраска Т-лимфоцитов Anti-Rat CD3

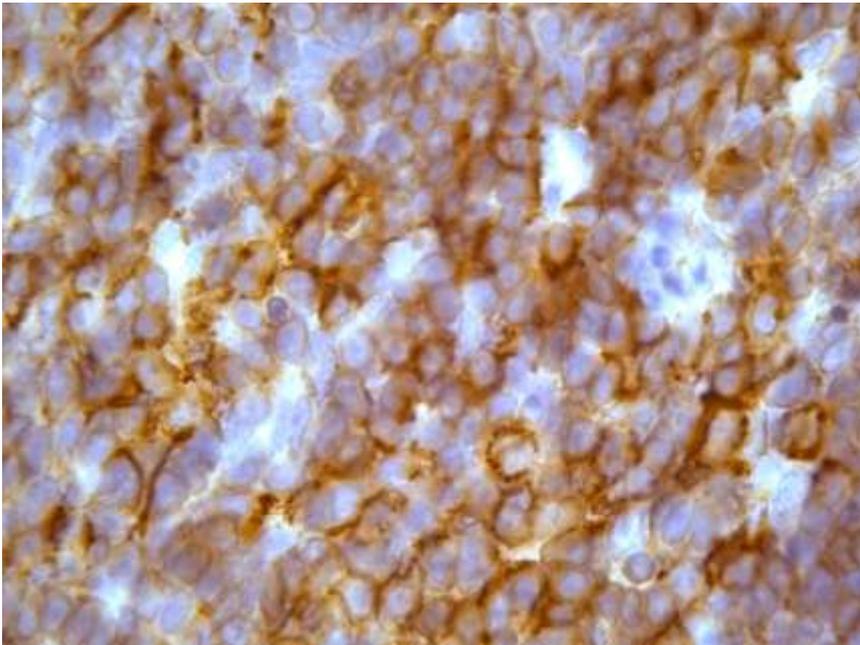


Рисунок 4 – Препарат интактного тимуса. Иммуногистохимическая окраска Т-лимфоцитов Anti-Rat CD3

2 Аналитический отчет о проведении экспериментальных исследований

2.1 Иммунная регуляция репаративной регенерации семенника

При повреждении семенника не возникает состояния естественной иммунологической толерантности, а происходит стимуляция лимфоидного аппарата, сопровождающаяся образованием специфических аутоантител – антиспермальные антитела (АСАТ). Эти АТ способны оказывать влияние на разные процессы, происходящие в семенниках и в результате их выделения происходит общее снижение сперматогенной функции и затруднения в регенерации. По данным литературы АСАТ являются фактором нарушения фертильности у 18% мужчин из бесплодных пар. Кроме этого, данный вопрос актуален при нахождении способов сохранения сперматогенеза после различных оперативных вмешательств на яичках. На сегодняшний момент данный способ заключается в применении иммуносупрессоров, противовоспалительных препаратов. Однако иммунодепрессанты снижают иммунитет и обладают цитотоксическим действием, оказывающим неблагоприятное влияние на организм. Поэтому вопрос моделирования такого состояния иммунной системы, при котором будет происходить не ухудшение, а оптимизация регенераторного процесса в семеннике, является весьма актуальным.

В ходе выполнения данного НИР были получены следующие результаты. При активации иммунной системы полиоксидонием масса семенника не увеличивается, как это происходит при проколе без введения препаратов, а остаётся на уровне интактных животных. При микроскопическом исследовании оперированного семенника наблюдается различная степень атрофии сперматогенного эпителия в извитых канальцах, расположенных вблизи очага повреждения, причём в большей степени, чем это происходило в семенниках крыс без введения иммунокорректора. Отмечается снижение индекса сперматогенеза, числа сперматогоний. В повреждённом семеннике наблюдается увеличение числа лимфоцитов. Это

свидетельствует о том, что активация иммунной системы оказывает угнетающее влияние на процессы регенерации семенника и сперматогенеза в результате развития аутоиммунной реакции. Таким образом, введение полиоксидония не только не способствует восстановлению сперматогенеза при повреждении семенника, но и, наоборот, приводит к ещё большему распространению деструктивных процессов в оперированном органе.

При угнетении иммунной системы тимодепрессином реакция на повреждение семенника выражалась в снижении массы обоих семенников по сравнению с массой органов контрольных животных. При гистологическом исследовании выявлено, что структура сперматогенного эпителия сохраняет нормальный упорядоченный вид. В большинстве семенных канальцев встречаются половые клетки разных генераций. Наблюдается увеличение диаметра и площади поперечного сечения семенных канальцев в обоих семенниках. Кроме этого, в неповрежденном семеннике увеличивается индекс сперматогенеза и число сперматогоний, что позволяет говорить об ускорении регенераторных процессов в семеннике животных с подавленной иммунной системой. Участие иммунной системы в возникновении данных изменений очевидно, так как наблюдается резкое увеличение числа лимфоцитов в канальцах как поврежденного, так и интактного семенников. Данный факт свидетельствует о миграции клеток иммунной системы в исследуемый орган.

Таким образом, активация иммунной системы приводит к замедлению репаративной регенерации семенника, а угнетение к более активному восстановлению.

При исследовании роли отдельных звеньев иммунной системы были выявлены следующие закономерности. При активации В – звена иммунной системы миелопидом реакция на повреждение семенника выражалась в увеличении массы обоих семенников по сравнению с массой органов интактных животных, что свидетельствует о развитии гипертрофии. Надо отметить, что данный факт был отмечен только в данной группе из всех

исследуемых.

При гистологическом исследовании семенников выявлено увеличение диаметра и площади поперечного сечения семенных канальцев, снижение числа слущенных канальцев. Все это свидетельствует о положительной динамике репаративных процессов на фоне активации В-звена иммунной системы.

При активации Т-звена иммунной системы тактивином реакция на повреждение семенника выражалась в снижении массы обоих семенников по сравнению с массой органов контрольных животных. При гистологическом исследовании выявлено увеличение диаметра и площади поперечного сечения семенных канальцев, числа сперматогоний, снижение числа слущенных канальцев. Практически та же картина наблюдалась и при повреждении семенника на фоне стимуляции макрофагов галавитом. Все это свидетельствует о том, что активация и Т-лимфоцитов, и макрофагов приводит к стимуляции репаративных процессов в семеннике, но более длительно, так как через 12 суток после прокола увеличения массы семенников еще не происходит, хотя судя по гистологии предпосылки к этому есть.

Во всех экспериментальных группах отмечалась лимфоцитарная инфильтрация поврежденного семенника, а не редко и интактного.

Таким образом, исходное состояние иммунной системы существенно влияет на морфофункциональное состояние семенных желез после повреждения. Стимуляция В-клеточного звена иммунной системы позволяет сохранить относительно нормальный сперматогенез после повреждения семенника без отрицательных побочных эффектов.

2.2 Иммунная регуляция репаративной регенерации щитовидной железы

При морфологическом исследовании щитовидной железы через 7 суток после частичной резекции отмечались признаки, свидетельствующие о повышении ее функциональной активности (рисунок 5а). В паренхиме

железы наблюдалась картина полиморфизма фолликулов, т.е. наряду с крупными выявлялись средние и мелкие фолликулы. Достоверно увеличивались высота тиреоидного эпителия и диаметр ядер тироцитов. Коллоид тесно прилегал к стенкам фолликулов. Между фолликулами отмечалось увеличение количества интерфолликулярных островков, а, как известно, островки являются резервом для образования новых фолликулов и имеют большое значение в регенерации паренхимы щитовидной железы в случае, если поражение носит обширный характер.

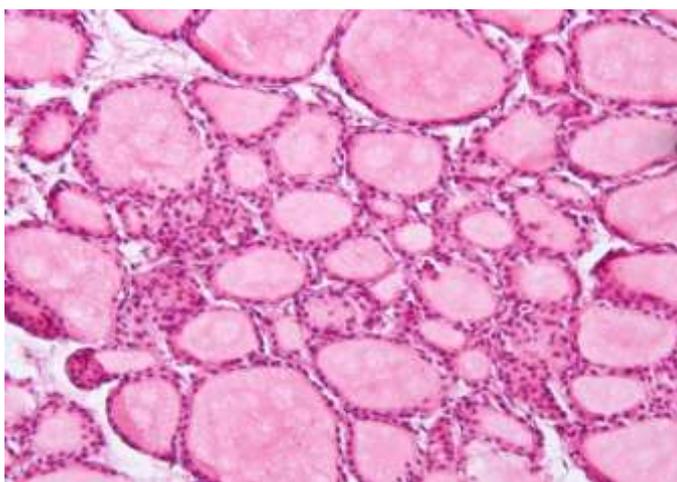
Морфологическая картина щитовидной железы после резекции у животных с активированным макрофагальным звеном отличалась от контроля (рисунок 5б). Паренхима железы была представлена мелкими и средними фолликулами. Высота тиреоидного эпителия и диаметр ядер тироцитов были достоверно меньше, по сравнению с контролем, и находились на уровне с показателями интактных животных. Коллоид равномерно заполнял все пространство фолликула, в нем выявлялись резорбционные вакуоли. Между фолликулами отмечалась пролиферация интерфолликулярного эпителия, что свидетельствует об активации репаративных процессов в щитовидной железе. Таким образом, регенерация железы при стимуляции макрофагов с помощью иммунокорректора галавита протекает без признаков нарушения стромально-клеточного соотношения, а увеличение количества интерфолликулярных островков, по сравнению с контролем, указывает на ускорение восстановительных процессов в щитовидной железе.

При активации В-звена миелопидом гистологическая картина щитовидной железы после резекции характеризовалась выраженными изменениями по сравнению с контролем и интактными животными (рисунок 5в). Преобладали фолликулы мелких размеров, округлой формы, среди которых встречались гипертрофированные фолликулы. Средний диаметр фолликулов был меньше по сравнению с контролем и интактными животными. Большинство тироцитов имело призматическую форму.

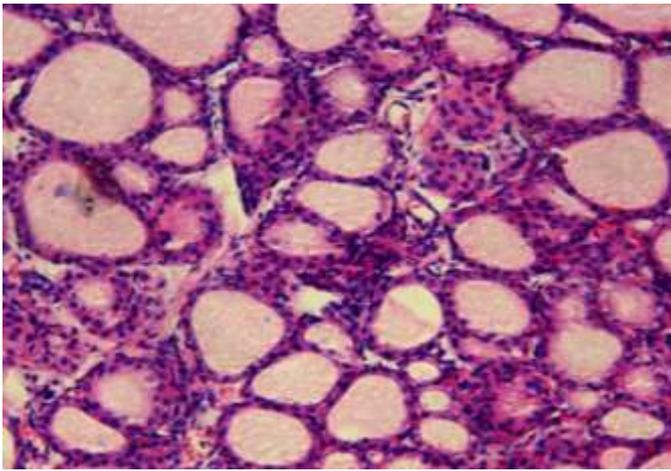
Снижался просвет-эпителиальный индекс и индекс накопления коллоида. Коллоид заполнял не все пространство фолликула. Отмечалось увеличение относительного объема интерфолликулярного эпителия при снижении относительного объема фолликулярного эпителия. Таким образом, при активации В-звена в щитовидной железе после резекции развиваются изменения характерные для тиреоидной дисфункции со снижением количества и активности функционирующей паренхимы.

При активации Т-лимфоцитов тактивинном в щитовидной железе после резекции также отмечались достоверные изменения по сравнению с контролем и интактными животными (рисунок 5г). В паренхиме железы наблюдался полиморфизм фолликулов с преобладанием мелких фолликулов. Средний диаметр фолликулов был меньше по сравнению с контролем и интактными животными. Снижался просвет-эпителиальный индекс и индекс накопления коллоида. Объем коллоида в фолликулах уменьшался, занимал не все пространство. Количество интерфолликулярных островков было достоверно больше по сравнению с контролем и интактными животными. Данные изменения свидетельствуют о повышенной функциональной активности железы и активации репаративных процессов.

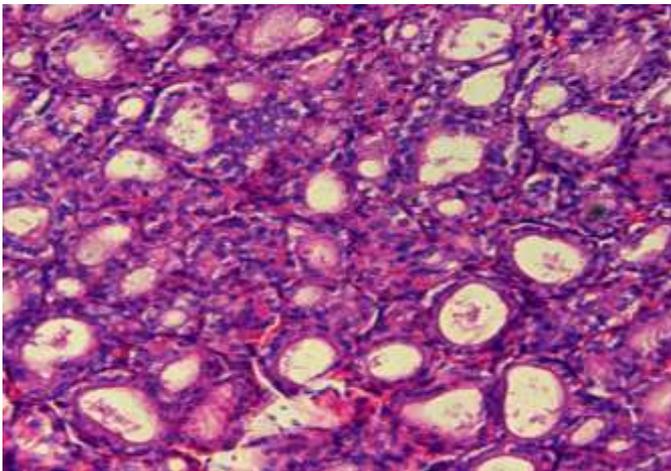
а)



б)



в)



г)

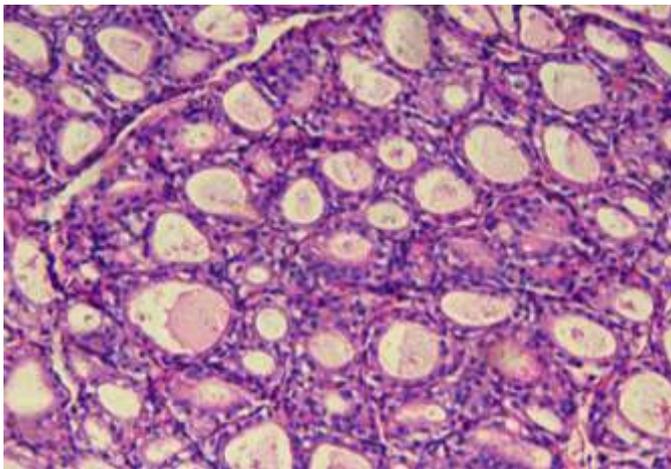


Рисунок 5 - Щитовидная железа после частичной резекции на фоне введения различных иммунокорректоров. а – без введения препаратов, б – активация макрофагов галавитом, в – активация В-звена миелопидом, г – активация Т-звена тактивинном. Окр. гематоксилином и эозином, $\times 200$

Таким образом, морфологические и морфометрические данные

свидетельствуют о том, что активация отдельных звеньев иммунной системы при частичной резекции щитовидной железы приводит к различному течению репаративных процессов в ней. При этом ускорению репаративных процессов в щитовидной железе способствует стимуляция макрофагов.

2.3 Иммунная регуляция репаративной регенерации глаза

При исследовании срезов сетчатки подопытных крыс в поврежденных глазах наблюдали участки дегенерации, соответствующие нанесенным лазерным коагулятам. Дегенеративные участки представляли собой нарушение архитектоники всех слоев сетчатки, сопровождавшееся разрушением и дезорганизацией фоторецепторного слоя, большинства нейронов в наружном и внутреннем зернистых слоях

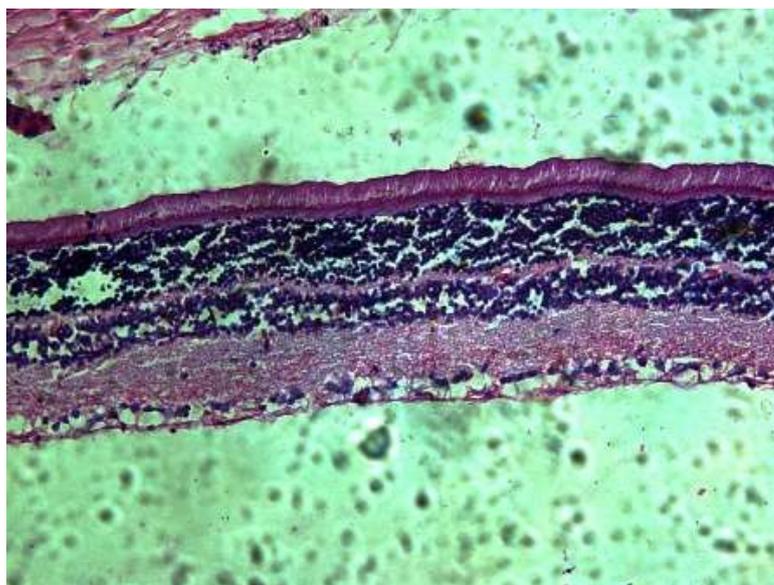


Рисунок – 6 Сетчатка глаза крысы в норме

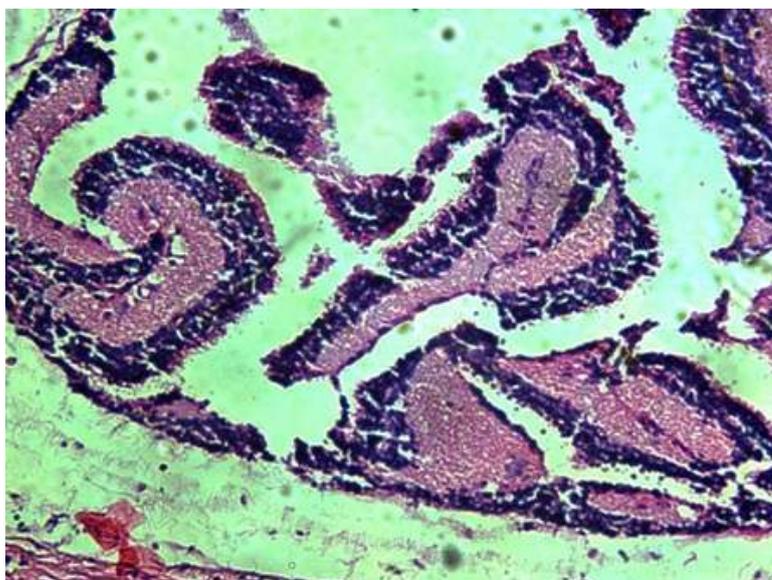


Рисунок - 7 Сетчатка глаза крысы, поврежденная при лазерной коагуляции

При активации иммунной системы происходит уменьшение размеров сетчатки, причем как в поврежденном так и интактном глазах, а также наблюдаются нарушения в структуре фоторецепторного слоя на протяжении всей сетчатки. При угнетении иммунной системы уменьшение размеров сетчатки наблюдается только в поврежденном глазу, а слой палочек и колбочек имеет более правильную структуру. Сравнивая полученные результаты видно, что при угнетении иммунной системы истончение сетчатки происходило в меньшей степени. Показано, что фоторецепторный слой, внутренний сетчатый слой, а также зернистые слои сетчатки в интактных глазах лучше выражены при введении тимодепрессина по сравнению с полиоксидонием.

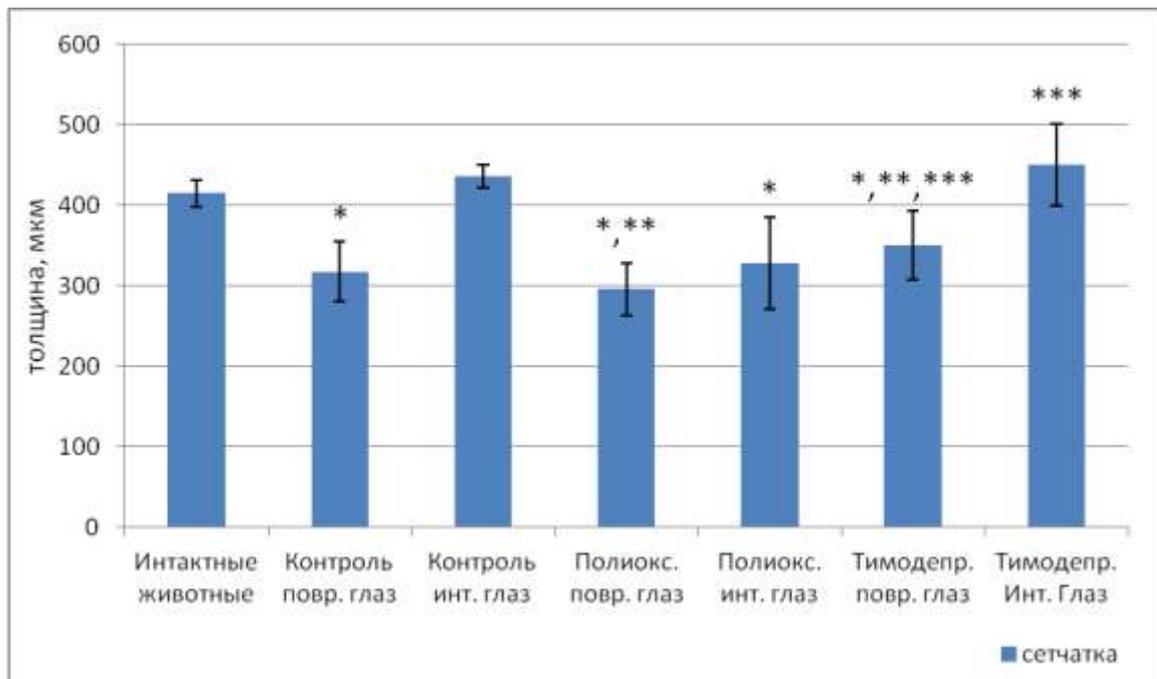


Рисунок 8 - Изменение толщины сетчатки при лазерной коагуляции на фоне введения полиоксидония и тимодепрессина

* - данные достоверны при $p < 0,05$ по сравнению с интактными животными.

** - данные достоверны при $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

*** - данные достоверны при $p < 0,05$ по сравнению с животными, которым вводили полиоксидоний.

Реакция иммунной системы на лазерную коагуляцию сетчатки глаза включает в себя увеличение коэффициента массы селезенки, при уменьшении ее клеточности, а также увеличение массы тимуса и клеточности костного мозга. Анализ периферической крови показал, понижение количества эритроцитов, увеличение числа гранулоцитов, что объясняется результатом воспалительной реакции в ответ на повреждение сетчатки.

Таким образом, активация иммунной системы ведет к достоверному уменьшению размеров сетчатки в обоих глазах (и увеличению размеров очагов лазерного поражения), то есть подавляет репаративные процессы в сетчатке. Угнетение же иммунной системы приводит к уменьшению размеров сетчатки только в поврежденном глазе (при этом также уменьшает

и размеры зон первичного лазерного поражения), то есть повышает репаративную активность сетчатки.

3 Отчет по обобщению и оценке результатов исследований

В настоящее время уже доказано, что в регуляции репаративной регенерации важную роль играет иммунная система. Широкое распространение получила гипотеза, что при повреждении органов и тканей лимфоциты приобретают морфогенетическую функцию и стимулируют репаративные процессы в поврежденном органе. В частности, описана миграция лимфоцитов, предшествующая активации регенерации, в печень, в костный мозг и другие органы. Данное явление связывают в основном с активностью Т-лимфоцитов. Имеющиеся данные указывают на то, что реализация морфогенетической функции лимфоцитами происходит аналогично реализации их иммунологической активности за счет клеточных контактов и продукции лимфокинов. Однако механизм действия морфогенетически активных лимфоцитов до конца не расшифрован.

Ранее при исследовании участия иммунной системы в регуляции репаративной регенерации обычных тканей (печень, кроветворная ткань) нами была предложена гипотеза о существовании 2-х механизмов, с помощью которых лимфоциты участвуют в передаче регенераторного сигнала: макрофагзависимый, отвечающий за клеточную регенерацию, и макрофагnezависимый, отвечающий за внутриклеточную (рисунок 9). Печень относится к тканям с 2-мя типами регенерации: при активации Т-звена иммунной системы отмечается стимуляция преимущественно внутриклеточных механизмов, а при активации макрофагов – клеточных. Кроветворная ткань относится к группе тканей с клеточным типом регенерации, поэтому активация Т-лимфоцитов не изменяет стимулирующий эффект лимфоидных клеток, а активация макрофагов, наоборот, существенно меняет не только эритропоэзстимулирующий, но и гемопоэзстимулирующий эффект.

В то же время особый интерес представляют “забарьерные органы” или иммунопривилегированные, которые имеют свои особенности и, конечно же, регуляция репаративных процессов при их повреждении

осуществляется отлично от той схемы, которую мы представили для обычных тканей.

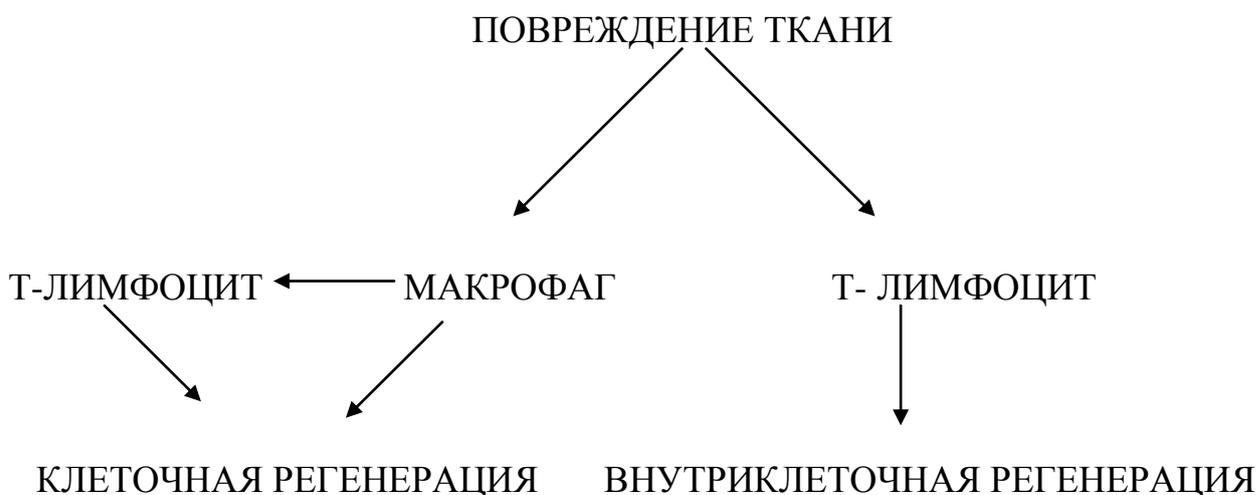


Рисунок 9 - Механизмы участия отдельных звеньев иммунной системы в регуляции регенерации обычных тканей

Так, нарушение анатомо-физиологических барьеров (при физических и химических повреждениях, воздействии вредных излучений, инфекции, развитию осложнений во время болезни) ведет к нарушению работы забарьерных органов, поражению тканей этого органа, вследствие возникновения воспалительного процесса, нарушению работы иммунной системы, развитию аутоиммунных процессов. Все это может привести к полной потере функциональной активности пораженного органа. Это предполагает обязательное включение в комплексную терапию помимо антибактериальных и противовоспалительных препаратов, и иммуномодуляторов. В связи с этим появляется возможность целенаправленной иммунокоррекции при повреждениях данных тканей с использованием препаратов, избирательно воздействующих на конкретные звенья иммунной системы. В последние годы в клинической практике применяются не только иммуносупрессоры, но и другие иммунокорректоры. Идет поиск препаратов, позволяющих не только избежать развития аутоиммунного процесса, но и оптимизировать восстановление поврежденной ткани.

В связи с этим определение механизмов участия отдельных звеньев иммунной системы в регуляции регенерации забарьерных тканей является актуальным вопросом. Для его решения нами был использован метод целенаправленного влияния на различные звенья иммунной системы с помощью иммунокорректоров.

Для оценки влияния функционального состояния иммунной системы на ход репаративной регенерации иммунопривилегированных органов были проведены эксперименты с использованием иммунокорректора – полиоксидония и иммуносупрессора - тимодепрессина.

Полученные данные свидетельствуют, что стимуляция иммунной системы ведет к подавлению репаративных процессов в сетчатке глаза и в семеннике. Угнетение же иммунной системы приводит к повышению репаративной активности этих тканей. Надо отметить, что данные реакции имеют тканевую специфичность, так как при повреждении щитовидной железы подобных изменений не было выявлено.

Таким образом, функциональное состояние иммунной системы в значительной мере влияет на ход репаративной регенерации иммунопривилегированных органов.

Установив данную связь между активностью иммунной системы и течением регенерации забарьерных тканей, была предпринята попытка оценить значение отдельных звеньев иммунной системы: Т-, В-лимфоцитов и макрофагов в этом процессе.

Для исследования роли отдельных звеньев нами были использованы 3 иммунокорректора: тактивин, как активатор Т-звена, миелопид, как активатор В-звена и галавит – моноцитарно-макрофагального.

Как и в случае с функциональным состоянием имело место органная специфичность и течение репаративных процессов в разных забарьерных органах имело разную направленность. Так, активация Т-звена иммунной системы при повреждении семенника и сетчатки глаза приводит к стимуляции репаративных процессов в этих органах, но более длительно, так

как морфологических изменений на ранних сроках мы не наблюдали, однако по гистологическим показателям имеются все предпосылки для этого. Та же самая картина отмечается и при стимуляции макрофагов. На фоне активации В-звена иммунной системы в этих органах наблюдается положительная динамика репаративных процессов.

При повреждении щитовидной железы отмечаются практически противоположные изменения тем, что происходят на фоне активации отдельных звеньев иммунной системы при повреждении семенника или сетчатки глаза. Ускорению репаративных процессов в щитовидной железе способствует стимуляция макрофагов, в то время как активация В-лимфоцитов приводит к изменениям характерным для тиреоидной дисфункции со снижением количества и активности функционирующей паренхимы.

Таким образом, при повреждении различных иммунопривилегированных органов ведущую роль играют разные звенья иммунной системы. В случае семенников и сетчатки глаза это В-лимфоциты, в случае щитовидной железы это макрофаги. При этом важную роль в проявлении морфогенетической функции наряду с отдельными клетками играют и их взаимодействия друг с другом. Совсем не удивительны полученные результаты, так как известно, что регенерация щитовидной железы отличается некоторыми особенностями по сравнению с восстановлением других забарьерных органов. Так, при травматическом повреждении щитовидной железы обычно не происходит распространения деструктивных процессов далеко за пределы очага повреждения, так как роль гемато-тканевого барьера, изолирующего аутоантигенный материал щитовидной железы, играет эпителий, образующий стенку фолликулов, и, возможно, эндотелий сосудов.

На основании полученных данных можно предложить следующую схему участия отдельных звеньев иммунной системы в регуляции регенерации забарьерных органов.

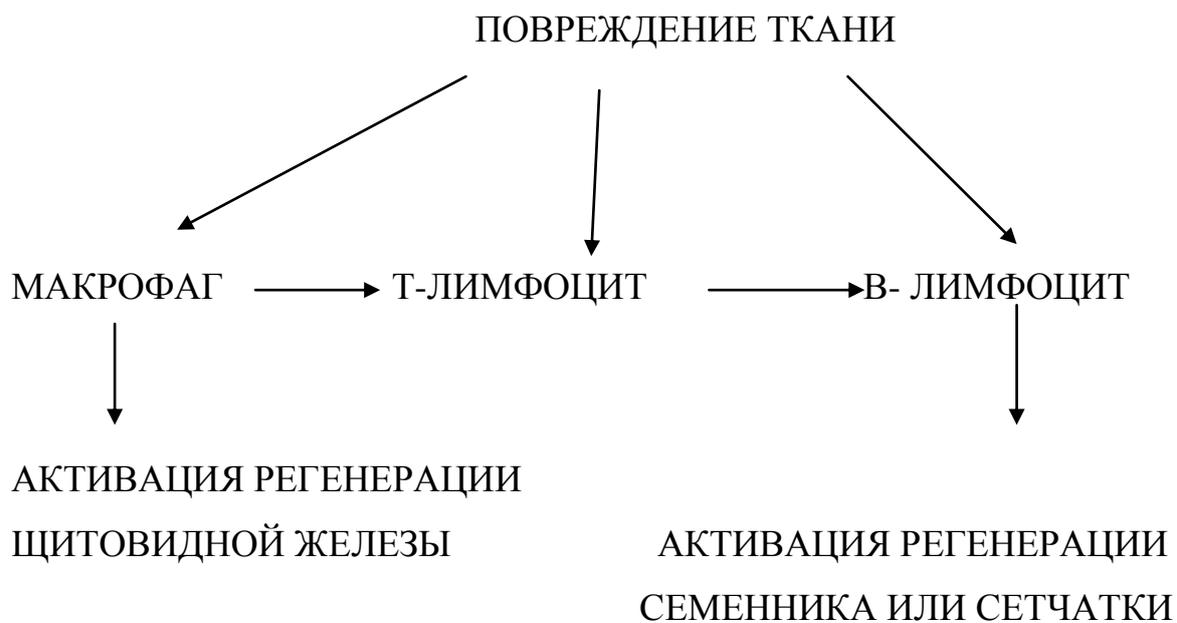


Рисунок 10 - Механизмы участия отдельных звеньев иммунной системы в регуляции регенерации забарьерных тканей

4 Публикации результатов НИР

Заключение

В ходе III этапа исследований по проблеме: «Роль иммунной системы в регуляции физиологической и репаративной регенерации забарьерных органов» были проведены следующие мероприятия:

1. Исследована возможность использования иммунокорректоров в качестве восстанавливающей терапии при повреждении забарьерных органов
2. Проанализированы и обобщены результаты экспериментальных исследований 1 и 2 этапа. Создана схема участия различных клеток иммунной системы в регуляции физиологической и репаративной регенерации иммунопривилегированных органов.
3. Даны рекомендации по использованию результатов НИР при разработке научно-образовательных курсов и результаты НИР включены в читаемые курсы лекций
4. Опубликованы 2 статьи по теме НИР «Репаративная регенерация семенника при различных функциональных состояниях иммунной системы» и «Оценка участия различных звеньев иммунной системы в регуляции репаративной регенерации щитовидной железы» в журнале ВАК «Вестник уральской медицинской академической науки». Результаты НИР были представлены на 5 различных международных и всероссийских конференциях.
5. Написаны и защищены две курсовые и дипломная работы по теме НИР студентами 3 и 4 курсов биологического факультета УРФУ. «Влияние исходного состояния иммунной системы на репаративную регенерацию сетчатки глаза», «Механизмы реализации морфогенетической функции иммунной системы», «Репаративная регенерация щитовидной железы при стимуляции В-звена иммунной системы».

Список используемых источников

1. Бабаева А.Г. Единство и противоположность цитогенетической активности лимфоцитов и их антителообразующей функции при восстановительных процессах в органах // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1999. - Т.128. - №11. - С.484-490.
2. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шерстобоев Е.Ю. Механизмы локальной регуляции кроветворения. – Томск: СТТ, 2000. - 148с.
3. Долгушин И.И., Бухарин О.В. Нейтрофилы и гомеостаз. – Екатеринбург: УрО РАН, 2001. - 713с.
4. Черешнев В.А., Юшков Б.Г., Климин В.Г., Лебедева Е.В. Иммунофизиология. – Екатеринбург: УрО РАН, 2002. - 260с.
5. Черешнева М.В., Шилов Ю.И., Баданина О.Н., Черешнев В.А., Кеворков Н.Н., Пономарева Т.Б., Шилов С.Ю. Иммунокоррекция при ранении глаза. - Екатеринбург: УрО РАН, 2001. - 147с.
6. Abo T., Kawamura T., Watanabe H. Physiological responses of extrathymic T cells in liver // Immunological reviews. - 2000. - V.174. - P.135-149.
7. Komarcevic A. The modern approach to wound treatment // Medicinski pregled. - 2000. - V.53. - №7-8. - P.363-368.
8. Бабаева А.Г., Шахламов В.А., Алтухова В.И., Гиммельфарб Е.И. Морфологические эквиваленты лимфоцитарно-эпителиального взаимодействия при восстановительных процессах в почке и печени // Архив патологии. - 1998. - Т.60. - №5. - С.58-61.
9. Бабаева А.Г., Шахламов В.А., Юдина Н.В. Морфологическая характеристика лимфоцито-гепатоцитарных контактов в различные сроки регенерации печени у мышей // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1994. - №2. - С.176-179.
10. Храмова Ю.С. Роль иммунной системы в регуляции регенерации тканей с разной восстановительной способностью: Дис. ... канд. биол. наук. – Екатеринбург, 2004. – 184с.
11. Park J.E., Barbul A. Understanding the role of immune regulation in wound

- healing // American journal of surgical pathology. - 2004. - V.187. - №5. - P.11-16.
12. Змушко Е.И., Белозеров Е.С., Митин Ю.А. Клиническая иммунология: руководство для врачей. - СПб.: Питер, 2001. - 576с.
13. Клиническая иммунология / Под ред. А.В. Караулова. - М.: Медицинское информ. агенство, 1999. - 604с.
14. Хаитов Р.М. Физиология иммунной системы. - М., 2001. - 223с.
15. Юшков Б.Г., Черешнев В.А., Климин В.Г., Черешнева М.В. Иммунная система и регуляция физиологических функций. – Екатеринбург: УрО РАН, 2001. - 74с.
16. Wong D.T., Donoff R.B., Yang J. et al. Sequential expression of transforming growth factors alpha and beta 1 by eosinophils during cutaneous wound healing in hamster // American journal of pathology. - 1993. - V.143. - №1. - P.130-142.
17. Yang J., Torio A., Donoff R.B. et al. Depletion of eosinophil infiltration by anti-IL-5 monoclonal antibody (TRFK-5) accelerates open skin wound epithelial closure // American journal of pathology. - 1997. - V.151. - №3. - P.813-819.
18. Shindoh S., Satoh K., Sakai T. et al. Expression of hepatocyte growth factor by activated eosinophiles in inflammatory lung tissue // Nihon kokyuki gakkai zasshi. - 1999. - V.37. - №1. - P.25-30.
19. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. - М.: Мир, 2000. - 592с.
20. Бабаева А.Г. Прошлое, настоящее и будущее проблемы лимфоидной регуляции пролиферации нелимфоидных клеток // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1995. - №5. - С.230-234.
21. Ito H., Ando K., Nakayama T., Taniguchi M., Ezaki T., Saito K., Takemura M., Sekikawa K., Imawari M., Seishima M., Moriwaki H. Role of Valpha 14 NKT cells in the development of impaired liver regeneration in vivo // Hepatology. - 2003. - V.38. - №5. - P.1116-1124.
22. Базарный В.В. К вопросу о лимфоидной регуляции кроветворения // Очерки экспериментальной патофизиологии. - Екатеринбург, 1999. - С.116-

121.

23. Федорова И.М., Бляхер С.С. и др. Характер гемопоэза у животных при экспериментальном угнетении иммунной системы // Вестник РАМН. - 1997. - №3. - С.40-43.

24. Бабаева А.Г., Гиммельфарб Е.И. Цитогенетические свойства лимфоидных клеток селезенки мышей в ранние сроки после двусторонней нефрэктомии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1997. - Т.124. - №7. - С.109-110.

25. Назарова Л.В. Морфологические аспекты восстановительных процессов легкого крыс и влияние на них стимуляторов регенерации: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. - М., 2000. - 38с.

26. Bingisser R.M., Holt P.G. Immunomodulating mechanisms in the lower respiratory tract: nitric oxide mediated interactions between alveolar macrophages, epithelial cells and T-cells // Swiss medical weekly. - 2001. - V.131. - №13-14. - P.171-179.

27. Nishiyama Y., Hamada H., Nonaka S., Yamamoto H., Nanno M., Katayama Y., Takahashi H., Ishikawa H. Homeostatic regulation of intestinal villous epithelia by B lymphocytes // Journal of immunology. - 2002. - V.168. - №6. - P.2626-2633.

28. Бляхер М.С., Гуторова Н.М., Федорова И.М., Бабаева А.Г., Юдина Н.В., Гиммельфарб Е.И. Численность субпопуляций лимфоцитов в селезенке и уровень пролиферации кроветворной ткани у мышей при оперативных вмешательствах // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1996. - №3. - С.301-303.

29. Chedid A., Sung C.C., Lepe M.R. et al. Expression of a novel protein by regeneration hepatocytes and peripheral blood lymphocytes // Clinical and diagnostic laboratory immunology. - 2001. - V.8. - №6. - P.1292-1294.

30. Бабаева А.Г., Арсентьева В.В. Подавление пролиферации эпителиальных клеток у мышей спленоцитами односторонне сиаладенэктомированных сингенных доноров // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1991. - №9. - С.328-330.

31. Дизрегуляционная патология / Под ред. Г.Н. Крыжановского. - М.: Медицина, 2002. - 632с.
32. Маянский А.Н., Пикуза О.И. Клинические аспекты фагоцитоза. – Казань: Магариф, 1993. - 192с.
33. Осипенко А.В., Черешнев В.А. Иммунобиологические механизмы регенерации тканей. – Екатеринбург: УрО РАН, 1997. - 130с.
34. Захаров Ю.М. Лекции по физиологии системы крови. – Челябинск: Медицинский вестник, 1998. - 152с.
35. Громыхина Н.Ю., Козлов В.А. Роль макрофагов во взаимодействии иммунной и эритроидной систем при формировании иммунного статуса // Иммунология. - 1997. - №1. - С.25-27.
36. Tompkins A.B., Hutchinson P., Kretser D.M., Hedger M.P. Characterization of lymphocytes in adult rat testis by flow cytometry: effects of activin and transforming growth factor beta on lymphocytes subsets in vitro // Biology of reproduction. – 1998. – Vol. 58. - №4. – P. 943-951.
37. Schlatt S., Kretser D.M., Hedger M.P. Mitosis of resident macrophages in adult rat testis // Journal of reproduction and fertility. – 1999. - Vol.116. - №2. – P. 223-228.
38. Bozhedomov V.A., Teodorovich O.V. Epidemiology and causes of autoimmune male infertility // Expert opinion on biological therapy. – 2004. - №6. - P. 813-825.
39. Halberstadt C., Emerich D.F., Gores P. Use of Sertoli cell transplants to provide local immunoprotection for tissue grafts // Science. – 2004. - №28. - P.304-305.
40. Кожевников В.С., Набиуллин Р.Р., Лозовой В.П. Причины возникновения и роль иммунодефицита при травме // Вестник АМН СССР. – 1990. - №1. - С.3-7.
41. Emerich D.F., Hemendinger R., Halberstadt C.R. The testicular-derived Sertoli cell: cellular immunoscience to enable transplantation // International journal of andrology. - 2003. - №2. – P.121-125

42. Воспаление. Руководство для врачей. / Под ред. В.В.Серова и В.С.Паукова. – М: Медицина, 1995. - 640с.
43. Чередеев А.Н., Ковальчук А.В. Мембранные белки мононуклеарных фагоцитов в межклеточных взаимодействиях // Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии. - 1995. - № 3. - С.12-14.
44. Nakagawa T., Nabeshima Y., Yoshida S. Functional identification of the actual and potential stem cell compartments in mouse spermatogenesis // International journal of urology. - 2006. - №8. - P.103-108.
45. Черешнев В.А., Кеворков Н.Н., Шмагель К.В., Ярилин А.А. Иммунология комбинированных радиационных поражений. – Екатеринбург: УрО РАН, 1997. - 164с.
46. Brawley C., Matunis E. Regeneration of male germline stem cells by spermatogonial dedifferentiation in vivo // International review of cytology. – 2004. - 233. - P. 181-241
47. Райцина С.С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции. – М.: Наука, 1985. - 177с.
48. Jose J., Cunha-Vaz. The blood-ocular barriers: past, present, and future // Documenta Ophthalmologica. – 1997. – 93. – P. 149-157
49. Streilein J.W., Masli S., Takeuchi M., Kezuka T. The Eye's View of Antigen Presentation // Human Immunology. – 2002. – 63. – P. 435–443.
50. Tsonis P. A., Rio-Tsonis K.D. Lens and retina regeneration: transdifferentiation, stem cells and clinical applications // Experimental Eye Research. – 2004. – 78. – P. 161-172.
51. Ahmad I., Tang L., Pham H. Identification of neural progenitors in the adult mammalian eye // Biochemical and biophysical research communications. – 2000. – 270. – P. 517–521.
52. Haruta M., Kosaka M., Kanegae Y., Saito I., Inoue T., Kageyama R., Nishida A., Honda Y., Takahashi M. Induction of photoreceptor - specific phenotypes in adult mammalian iris tissue // Nature neuroscience. – 2001. – 4. - P. 1163–1164.

53. Zhao X., Das A.V., Thoreson W.B., James J., Wattnem T.E., Rodriguez - Sierra J., Ahmed I. Adult corneal limbal epithelium: a model for studying neural potential of non-neural stem cells/progenitors // *Developmental biology*. – 2002. – 250. – P. 317–331.
54. Arsenijevic Y., Taverney N., Kostic C., Tekaya M., Riva F., Zografos L., Schorderet D., Munier F., 2003. Non-neural regions of the adult human eye: a potential source of neurons? // *Investigative ophthalmology visual science*. – 2003. – 44. – P. 799–807.
55. Reh T., Levine E. Multipotential stem cells and progenitors in the vertebrate retina // *International journal of neurobiology*. – 1998. – 36. – P. 206–220.
56. Tropepe V., Coles B., Chiasson B., Horsford D., Elia A., McInnes R., van der Kooy D. Retinal stem cells in the adult mammalian eye // *Science*. – 2000. – 287. – P. 2032–2036.
57. Boulton M., Albon J. Stem cells in the eye // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. – 2004. – 36. – P. 643–657.
58. Klassen H., Sakaguchi D. S., Young M. J. Stem cells and retinal repair // *Progress in Retinal and Eye Research*. – 2004. – 23. – P. 149–181.
59. Першин К.Б., Пашинова Н.Ф., Азербает Т.Э., Першин Б.Б. Иммунодидактические, иммунопрофилактические и иммунореабилитационные проблемы офтальмологии // *International journal of immunorehabilitation*. - 1999. - № 11. - С.168-190.
60. Vallochi A.L., Commodaro A.G., Schwartzman J.P., Belfort R. Jr., Rizzo L.V. The role of cytokines in the regulation of ocular autoimmune inflammation // *Cytokine & Growth Factor Reviews*. – 2007. – 18. - P. 135–141
61. Cui Q., Yin Y., Benowitz L. I. The role of macrophages in optic nerve regeneration // *Neuroscience*. – 2009. – 158. – P. 1039–1048.
62. Логвинов С.В., Кривошеина О.И., Запускалов И.В., Варакута Е.Ю., Потапов А.В. Структурные изменения сетчатки и стекловидного тела при моделировании пролиферативной витреоретинопатии на фоне аллоксанового диабета // *Морфология*. – 2005. – Т. 127. - №3. - С. 34-37.

63. Логвинов С.В., Потапов А.В., Варакута Е.Ю., Дробатулина Д.А. Динамика структурных изменений сетчатки при длительном воздействии яркого света // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2003. – Т. 136. - №10. – С. 463-466.
64. Потапов А.В., Варакута Е.Ю., Дробатулина Д.А., Мустафина Л.Р., Логвинов С.В. Изменение структур глаза при световом воздействии // Морфология. – 2002. – Т. 121. - №2-3. – С. 128
65. Логвинов С.В., Плотников М.Б., Варакута Е.Ю., Жданкина А.А., Потапов А.В., Михуля Е.П. Влияние асковертина на морфологические изменения сетчатки крыс при воздействии высокоинтенсивного света // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – Т. 140. - №11. – С. 591-594.
66. Логвинов С.В., Плотников М.Б., Варакута Е.Ю., Жданкина А.А., Потапов А.В., Михуля Е.П. Влияние каровертина на реакцию пигментного эпителия и радиальной глии сетчатки при воздействии яркого света // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2007. – Т. 144. - №7. - С.112-114.
67. Мяделец О.Д. Основы частной гистологии. М.: Медицинская книга, 2002. – 374 с.
68. Федоров С.В., Нигматуллин Р.Т., Нартайлаков М.А., Кашаев М.Ш. Стимуляция регенерации остаточной ткани щитовидной железы в эксперименте // Вестник Башкирского университета. – 2006. - №1. – С. 60-63.
69. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы. – СПб., 2002. – 288 с.
70. Hartoft-Nielsen M.L., Rasmussen E.K., Feldt-Rasmussen U., Buschard K., Bock T. Estimation of number of follicles, volume of colloid and inner follicular surface area in the thyroid gland of rats // Journal of anatomy. – 2005. – 207. – P. 117–124.
71. Tsujio M., Watahiki Y., Yoshioka K., Mutoh K. Morphology of thyroid follicular cells of methimazole-treated rats // Anatomia, histologia, embryologia. -

2007. – 36. – P. 290–294.

72. Piłat-Marcinkiewicz B., Brzóska M.M., Moniuszko-Jakoniuk J. Thyroid and parathyroid function and structure in male rats chronically exposed to cadmium // Polish journal of environmental studies. – 2008. - V.17. - №1. – P. 113-120.

73. Ogłodek E., Wiczkowski A., Sieroń A., Bilska-Urban A., Mośl D.. The effect of extremely low-frequency magnetic fields on the morphology of thyroid gland cells in female rats // Polish journal of environmental studies. – 2008. – V.17. - №5. – P. 757-763.

74. Бендюг Г.Д., Гриневич Ю.А., Храновская Н.Н., Фильчаков Ф.В., Югринова Л.Г., Кадькаленко А.Г. Состояние иммунной системы крыс после тиреоидэктомии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2003. – Т. 135. - №2. – С. 178-181.

75. Юшков В.В., Юшкова Т.А., Казьянин А.В. Иммунокорректоры: руководство для врачей и провизоров. – Екатеринбург: ООО «ИРА УТК», 2002. – 255с.

76. Атлас клеток крови и костного мозга / Под ред. Г.И. Козинца. - М.: Триада-Х, 1998. - 152с.