

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ЭФФЕКТОРНЫХ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА В ПРОЕКЦИИ АКУПУНКТОРНЫХ ТОЧЕК

Е.А. Гурьянова

ФГОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова» (г. Чебоксары)

РЕЗЮМЕ

Целью исследования явилось изучение количественного состава эффекторных клеток иммунной системы в образцах кожи человека в области корпоральных, дистальных и расположенных на лице акупунктурных точек. Содержание Т-хелперов, Т-супрессоров, макрофагов, пролиферирующих клеток определяли с использованием моноклональных антител к дифференцированным антигенам CD4, CD68, CD45R, PCNA. Были выявлены отличия между участками кожи в проекции исследованных точек акупунктуры и в контрольных зонах, взятых вблизи исследуемых точек. Число иммунопозитивных клеток во всех образцах кожи в точке SI 19 и TE 17 преобладало над числом клеток, находящихся вне точек. Наиболее часто выявляемыми иммунными клетками являются Т-хелперы, локализующиеся, в основном, в сосочковом слое дермы, в периваскулярной зоне и в области сальных желёз, Т-супрессоры и макрофаги встречаются редко.

Ключевые слова: точка акупунктуры, иммунопозитивные клетки, структуры кожи.

RESUME

Research objective was studying of quantitative structure immune cells in samples of a skin of the person in area of different acupuncture points. Maintenance T-helper, T-suppressor, macrophages, PSNA-cells defined with use monoclonal antibodies to differentiated antigenes CD4, CD68, CD45R, PCNA. Differences between skin sites in acupuncture points TE 17 and SI 19, and in the inspection zones taken near to investigated points have been revealed. The number of immune cells in all samples of a skin in point SI 19 and TE 17 prevailed over number of the cells which are in an inspection zone of points TE 17 and SI 19.

Keywords: acupuncture points, human skin, immune cells.

ВВЕДЕНИЕ

Анализ многочисленной литературы, посвященной изучению механизмов акупунктуры и ее материального субстрата, показал, что основное внимание исследователей традиционно обращено на нервно-сосудистые структуры кожи, поскольку в точках акупунктуры (ТА) имеется более высокая концентрация окончаний тонких нервных волокон, рецепторов, скоплений кровеносных и лимфатических сосудов [1, 2]. Кроме того, распределение рецептивных полей А- и С-волокон совпадает с локализацией ряда ТА [3]. В то же время известно, что важнейшую роль в формировании ответной реакции органов сомато-висцеральной системы на иглоукалывание в корреспондирующую их точку, играет соединительная ткань богатая разнообразными клеточными элементами [4, 5]. В предыдущих исследованиях нами было показано, что характерной особенностью точек акупунктуры является высокая численность в них тучных и гранулярных люминесцирующих клеток [6]. Эти клетки дают положительную реакцию как на нейромедиаторы, так и на

маркеры нейроэндокринных клеток – синаптофизин и нейронспецифическую энолазу [7]. Нейроэндокринная и иммунная системы кожи имеют тесные взаимосвязи через продукцию и секрецию клеточных медиаторов, включая цитокины, хемокины и др. С одной стороны, цитокины контролируют все этапы развития и дифференцировки иммунных и соматических клеток. С другой стороны, нейропептиды через специфические рецепторы, экспрессируемые иммунными клетками, изменяют их функциональную активность. К иммунным клеткам кожи относятся Т-лимфоциты, моноциты-макрофаги, клетки Лангерганса, тучные и др. клетки [8, 9]. Среди эффекторных лимфоцитов в коже могут встречаться CD4+, CD8+, CD45R+клетки, стимулирующие эффекторные функции макрофагов. Для практики представляло интерес выяснить, зависят ли иммуномодулирующие свойства точек акупунктуры от определенного баланса иммунных клеток в коже. В акупунктуре традиционно существуют точки с явно выраженными специфичными иммуномодулирующими свойствами: LI 4, LI

11, St 36, CV 20 и др. Иглоукалывание в эти точки изменяет показатели лейкоформулы, регулирует уровень Т-хелперов и Т-супрессоров в крови, корректирует тимусзависимые иммунодефициты и др. [1, 10, 11].

В связи с этим, целью настоящей работы является исследование иммунных клеток кожи в проекции точек акупунктуры разных меридианов, обладающих в той или иной мере иммунной активностью.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Были исследованы образцы человеческой кожи, взятые у трупов. Из 14 трупов 7 было мужского пола среднего возраста, условно здоровых при жизни и умерших от травм. Время с момента наступления смерти до взятия материала было не более 12 часов. Кроме того, были исследованы образцы кожи, взятые у женщин 45–50 лет после операции фэйс-лифтинга (с предварительного согласия пациенток). Исследовались как корпоральные ТА, так и ТА лицевой области: LI 11, CV 6, SI 19; TE 17; BL 2; GV 14. Контролем служили участки кожи, взятые сбоку от меридиана на расстоянии 1 см. Локализация ТА определялась по анатомо-топографическому методу и с помощью прибора «Рефлекс». Электрокожное сопротивление в ТА составляло 55–65 кОм, вне ТА – более 100 кОм. Иммуногистохимическое исследование проводилось методом трехэтапного непрямого иммуноферментного анализа с использованием моноклональных антител против антигенов-маркеров иммунокомпетентных клеток (CD4, CD68, CD45R, PSNA). По литературным данным, макрофаги (CD68) составляют 21–34 % всех клеток соединительной ткани дермы. В нормальных условиях большее их число залегает в участках, имеющих обильное кровоснабжение. Т-хелперы (CD4) преимущественно активированы в периваскулярной зоне дермы, и постоянно готовы к распознаванию антигенов, представляемых эндотелиоцитами. Проллиферативная активность клеточных элементов является одним из основных показателей биологического поведения [12].

Представление о количественном распределении иммунопозитивных клеток получили методом их подсчета в 10 полях зрения под микроскопом «Альтами», при увеличении об. 40, с последующим вычислением для каждого случая среднего арифметического значения.

Корреляционный анализ проводился на персональном компьютере по стандартной программе Microsoft Excel для выявления достоверной взаимосвязи между изучаемыми показателями в норме. Значимость различий определяли по критерию Стьюдента (t). Различия считали значимыми при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В коже человека Т-хелперы (CD4+), в основном, локализируются в сосочковом слое дермы. Это некрупные клетки размером $6,1 \pm 0,2$ мкм, характеризующиеся округлой формой, округло-овальным ядром. Наибольшее число Т-хелперов в сосочковом слое выявлено в дорзальной ТА GV 14 – $27,2 \pm 1,1$, в контрольной зоне – снижено в 1,36 раз. В точках лица число CD4-позитивных клеток также высоко: в SI 19 – $25,2 \pm 1,1$, в контрольной зоне – снижено в 1,26 раз; в TE 17 – $23,8 \pm 1,1$; в контрольной зоне – достоверно снижено в 1,6 раза ($p < 0,05$) (табл. 1). В точках LI 11 и CV 6 число Т-хелперов меньше, чем в точках на лице, и достоверно не отличалось от контрольной зоны.

В области сальной железы выявлено наибольшее число CD4-позитивных клеток в проекции точки акупунктуры SI 19 – $19,8 \pm 1,3$; в контрольной зоне их число снижено в 1,65 раз ($p < 0,05$). В проекции точки акупунктуры TE 17 число CD4-позитивных клеток также достоверно выше в 1,8 раз, чем в контроле. В корпоральных ТА GV 14, CV 6, LI 11 число Т-хелперов достоверно меньше, чем в точках акупунктуры лица.

Значительное число CD4-позитивных клеток локализовано около волосяных фолликулов во всех исследованных точках. Достоверных различий в численности этих клеток в контрольной зоне и в проекции точек акупунктуры не наблюдается. Также не различается число этих клеток в корпоральных точках и в точках на лице.

Присутствие большого числа CD4-позитивных клеток наблюдается и в периваскулярной зоне, однако достоверных различий между точкой и контролем и между корпоральными и лицевыми точками не выявлено. В эпителии, около концевых отделов потовых желез встречаются единичные CD4-позитивные клетки.

Как показали наши исследования, макрофаги в коже человека встречаются очень

редко. Они представлены крупными клетками с яркой зернистостью, ядром неправильной формы, размерами $16,3 \pm 0,7$ мкм. Нами выявлено 3 типа макрофагов: 1 – клетки с крупными гранулами и яркой зернистостью; 2 – клетки с мелкими гранулами и яркой зернистостью; 3 – клетки с мелкими гранулами и светлой зернистостью.

Как в проекции точек акупунктуры, так и в контрольных срезах единичные макрофаги, в основном, локализируются в области сальных желез. В корпоральных точках акупунктуры их число еще меньше, чем в точках на лице. Так, в точке GV 14 число CD68-позитивных клеток составило $0,4 \pm 0,01$; в TE 17 – $0,6 \pm 0,06$, в контрольной зоне их число ниже в 2 раза ($p < 0,05$).

Небольшое число CD-68-позитивных клеток локализовано в периваскулярной зоне и около потовых желез, где существует некоторое преобладание числа макрофагов в проекции точек акупунктуры по сравнению с конт-

ролем. В распределении и численном соотношении CD68-позитивных клеток в эпителии, около волосяных фолликулов, в проекциях исследованных точек акупунктуры и в контрольных зонах, между корпоральными ТА и точками акупунктуры лица достоверных различий установлено не было.

Особое внимание в работе было уделено анализу популяции клеток в стадии пролиферации в коже человека. Установлено, что чаще всего PSNA-позитивные клетки локализируются в сосочковом слое дермы, около сальных и потовых желез. В сосочковом слое дермы число PSNA-позитивных клеток в проекции ТА выше, чем в контрольной зоне. Так, в точке SI 19 число PSNA-позитивных клеток выше в 1,2 раза; в точке TE 17 – выше в 1,5 раза, чем в контрольной зоне ($p < 0,05$). Около сальной железы в проекции точки SI 19 и GV 14 число PSNA-позитивных клеток значительно преобладает над таковым в контрольной зоне. В эпителии и перивас-

Таблица 1

**Число иммунокомпетентных клеток в различных структурах кожи
в проекции точек акупунктуры (ТА) ($M \pm m$)**

Исследованные структуры		CD4+		CD 68+		CD45+		PSNA+	
		вне ТА	в ТА	вне ТА	в ТА	вне ТА	в ТА	вне ТА	в ТА
Сосочковый слой дермы	SI 19	19,2±0,8	25,2±1,1*	0,8±0,04	1,2±0,06	0,9±0,02	1,5±0,3	13,1±0,9	15,6±0,6*
	BL 2	18,1±0,8	23,1±1,2*	0,7±0,03	1,1±0,09	0,8±0,03	1,4±0,03	11,1±0,5	13,6±0,5*
	TE 17	15,3±0,7	23,8±1,1*	0,2±0,01	0,5±0,03	0,2±0,8	0,1±1,1	7,5±0,6	11,3±0,8*
	GV 14	19,9±0,8	27,2±1,1	0,2±0,01	0,4±0,01	0,9±0,02	1,5±0,3	14,1±1,2	14,5±0,6*
	LI 11	1,0±0,1	1,8±0,1	0,1±0,01	0,3±0,01	0,8±0,03	1,4±0,03	10,1±0,5	11,7±0,5*
	CV 6	3,2±0,2	1,2±0,01	0,1±0,01	0,3±0,01	0,2±0,8	0,1±1,1	7,5±0,6	9,3±0,8*
Зона около сальных желез	SI 19	12,0±0,5	19,8±0,8*	1,0±0,05	1,4±0,06	0,2±0,01	0,6±0,01	20,7±1,6	31,8±1,6*
	BL 2	11,0±0,6	17,9±0,6*	0,9±0,05	1,3±0,05	0,2±0,02	0,7±0,03	17,1±0,8	18,6±0,7*
	TE 17	7,6±0,4	13,8±1,1*	0,3±0,02	0,6±0,06*	1,0±0,02	0,9±0,08	9,9±1,2	11,7±1,5
	GV 14	1,1±0,05	1,9±0,08	0,2±0,01	0,4±0,01*	0,2±0,01	0,6±0,01*	10,7±2,4	21,8±1,6*
	LI 11	1,0±0,1	1,8±0,1	0,1±0,01	0,3±0,01	0,2±0,02	0,7±0,03	11,1±0,8	14,6±0,7*
	CV 6	3,2±0,2	1,2±0,01	0,1±0,01	0,3±0,01	1,0±0,02	0,9±0,08	6,9±1,2	10,1±1,5
Периваскулярная зона	SI 19	12,2±0,5	11,8±0,5	0,6±0,07	1,2±0,04	0,1±0,01	1,1±0,02	1,9±0,05	3,9±0,1
	BL 2	10,1±0,6	10,4±0,4	0,5±0,03	1,1±0,05	0,1±0,01	0,9±0,02	1,7±0,05	3,7±0,12*
	TE 17	6,5±1,7	6,3±0,5	0,2±0,02	0,4±0,05	0,8±0,01	0,5±0,03	3,2±0,1	4,6±0,2*
	GV 14	10,2±0,5	11,4±0,4	0,6±0,07	1,3±0,04	0,1±0,01	0,5±0,02	2,9±0,05	3,2±0,1
	LI 11	8,1±0,6	10,1±0,4	0,5±0,03	1,1±0,05	0,1±0,01	0,5±0,02	2,7±0,05	3,1±0,12
	CV 6	5,5±0,7	6,1±0,3*	0,2±0,02	0,5±0,05	0,8±0,01	0,5±0,03	3,2±0,1	4,1±0,2*
Зона около волосяного фолликула	SI 19	10,1±0,5	6,7±0,3	0,2±0,04	0,4±0,02	0,3±0,04	0,7±0,01	10,9±0,5	24,6±1,1*
	BL 2	6,3±0,4	6,1±0,3	0,2±0,01	0,3±0,01	0,2±0,01	0,6±0,1	12,9±0,7	21,3±1,1
	TE 17	3,2±0,2	3,6±0,1*	0,1±0,004	0,2±0,01	0,3±0,05	0,2±0,06	5,0±0,3	5,2±1,2
	GV 14	7,1±0,5	6,9±0,3	0,2±0,04	0,3±0,02	0,3±0,04	0,5±0,01	16,9±0,5	21,6±1,1
	LI 11	5,3±0,4	6,2±0,3	0,2±0,01	0,2±0,01	0,2±0,01	0,6±0,1	10,9±0,7	11,3±1,1
	CV 6	3,2±0,2	2,9±0,1*	0,1±0,004	0,4±0,01	0,2±0,05	0,2±0,06	6,0±0,3	6,2±0,2

Примечание: * обозначены достоверные ($p < 0,05$) показатели.

кулярной зоне число клеток в стадии пролиферации меньше. Около волосяного фолликула в ТА SI 19 число PSNA-позитивных клеток составило $24,6 \pm 1,1$, в контрольной зоне – $10,9 \pm 0,5$ ($p < 0,05$). В ТА CV 6 число клеток в стадии пролиферации значительно меньше – $6,2 \pm 0,2$, в контроле – $6,0 \pm 0,3$. Около сосудов в точках число PSNA-позитивных клеток не превышало 3–5 в одном поле зрения. В эпителии, около потовых желез встречаются единичные клетки в стадии пролиферации.

В исследуемых структурах кожи в области исследованных ТА наблюдалось небольшое число CD45R-позитивных клеток (Т-супрессоров), а в эпителии, потовых и сальных железах, около волосяных фолликулов и в гиподерме наблюдались лишь единичные клетки.

Таким образом, в коже человека в области точек акупунктуры Т-хелперы локализуются, в основном, свободно в сосочковом слое дермы, около сосудов и сальных желез. Число Т-хелперов, локализующихся в сосочковом слое и около сальных желез достоверно выше в проекции точки акупунктуры, по сравнению с рядом лежащим участком. По-видимому, выявленные макрофаги и Т-супрессоры не имеют отношения к специфике ТА, а являются общими структурами кожи. Число CD68-, CD-45R-, PCNA-позитивных клеток в точке SI 19 и TE 17 преобладало над числом клеток, находящихся в контрольной зоне во всех исследованных структурах. В точках GV 14 и LI 11 отмечено значительное число Т-супрессоров. Экспрессия исследованных иммунных клеток, в целом, выше в точках акупунктуры лица, чем в корпоральных и дистальных точках.

Возможно, все точки акупунктуры, в той или иной мере обладают потенциальным иммуномодулирующим эффектом. В дальнейшем необходимо изучать специфические особенности мало используемых точек и разрабатывать оригинальные методики лечения иммунопатологии с расширением спектра акупунктурных точек.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вогралик В.Г., Вогралик В.М. Основы традиционной восточной рефлексодиагностики и пунктурной адаптационной терапии М.: ГОУ ВУНМЦ, 2001. – 536 с.
2. Sierpina V.S., Frenkel M.A. // South. Med. J. 2005 Mar; 98(3):330-7.
3. Лиманский Ю.П., Гуляев С.А., Самосюк И.З. Научные основы акупунктуры, Рефлексотерапия. – 2007. –

№ 2. – С. 59–71.

4. Василенко А.М. Рефлексотерапия. – 2006. – № 4. – С. 5–8.

5. Табеева Д. М. Иглоотерапия. – М.: Ратмос, 1994. – 472 с.

6. Любовцева Е.В, Гурьянова Е.А., Любовцев В.В. // Материалы 4 международ. научн. школы «Наука и инновации – 2009». – Йошкар-Ола: МарГУ, 2009. С. 165–167.

7. Гурьянова Е.А., Любовцева Е.В., Любовцева Л.А. // Морфологические ведомости. № 3–4. – С. 15 – 18.

8. Смирнова И. О., Кветной И.М., Князькин И.В. и др. нейроэндокринология кожи и молекулярные маркеры ее старения. – Спб.: Издательство ДЕАН, 2005. – С. 67–71.

9. Rogers P.A, Schoen A. M, Limehouse J. Probl. Vet. Med. 1992 Mar;4(1):162–93.

10. Jong M.S., Hwang S.J., Chen F. P. Acupunct. Electrother. Res. 2006;31(1-2):45–59.

11. Liu Y.M., Liu X.J., Bai S.S. J. Neuroimmunol. 2010 Mar 30; 220(1-2):25–33.

12. Ноздрин В.И., Барашкова С.А., Семченко В.В. Кожа и ее производные. Омск – Орел: Омская областная типография, 2005. – 200 с.

Адрес автора

К.м.н. Гурьянова Е.А.

Доцент кафедры восстановительной медицины ФГОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары
eagurian@rambler.ru