

16. Tondury G., Kubik St. Zur Ontogenese des Lymphatischen System // Handbuch der Allgemeinen Pathologie. Bd. III/6. Lymphgefässsystem. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag. 1972. S. 1–38.

Поступила в редакцию 10.05.2014  
Получена после доработки 17.11.2014

## TOPOGRAPHY, RELATIONS AND TRANSFORMATION OF LUMBAR LYMPHATIC SACS

*Ye. A. Shurkus*

The peculiarities of the structure, skeletotopy, and syntopy of the lumbar lymphatic collector were studied on 20 5–8 week-old embryos and on 80 9–36 week-old fetuses using a complex macro-microscopic method. It is found that the lumbar lymphatic collector in fetuses at 9–10 weeks was represented by retroperi-

toneal and retroaortic lymphatic sacs that had a fusion mode of formation and were interconnected. Retroperitoneal sac was located in the projection of L<sub>I</sub>–L<sub>IV</sub> and was in contact with the anterior surface of the abdominal aorta and inferior vena cava, aortic lumbar paraganglia, abdominal aortic plexus and ganglia of sympathetic trunk. Retroaortic sack at L<sub>I</sub>–L<sub>II</sub> was adjacent to posterior surface of the aorta, the lumbar vertebrae and the medial crus of the diaphragm. These topical relations were preserved throughout the whole fetal period. However, in fetuses of 11–13 weeks lymphatic sacs formed the lymphatic plexuses, while in fetuses of 14–36 weeks they formed lumbar lymph nodes and their interconnecting vessels.

**Key words:** *lymph sacs, lymph plexuses, lymph node primordial, magistralization*

Department of Human Morphology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg

© Н. В. Булякова, В. С. Азарова, 2015  
УДК 612.438-053:616.74-001-089.843

*Н. В. Булякова, В. С. Азарова*

## ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ТИМУСА НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ГЕЛИЙ-НЕОНОВОГО ЛАЗЕРА И АЛЛОПЛАСТИКУ ТРАВМИРОВАННЫХ МЫШЦ МЫШЕЧНОЙ ТКАНЬЮ ОТ ЖИВОТНОГО ТОГО ЖЕ ВОЗРАСТА

Лаборатория морфологических адаптаций позвоночных (зав. — д-р биол. наук О. Ф. Чернова), Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН, Москва

Изучены гистологические, цитологические и морфометрические изменения в тимусе у 1-месячных, взрослых (3–4-месячных) и старых (24–30-месячных) крыс (по 24 животных в каждой возрастной группе) в ходе регенерации мышц после аллопластики области травмы мышечной ткани животного того же возраста. Предварительно курсовому облучению гелий-неоновым (He-Ne) лазером подвергали мышцы донора или реципиента в дозе 4,5–5,4 Дж/см<sup>2</sup> на каждую конечность (в целом на животное 9,0–10,8 Дж/см<sup>2</sup>). Воздействие излучения He-Ne-лазера на подготавливаемые к операции икроножные мышцы у молодых, взрослых и старых крыс-реципиентов снижало морфофункциональную активность тимуса перед операцией, что выражалось в более слабой реакции на аллотрансплантат в начальные сроки после операции. Наблюдаемый эффект усиливался с увеличением возраста животного.

**Ключевые слова:** *тимус, мышечная травма, аллопластика, возраст, He-Ne-лазер*

С целью улучшения регенерации при имплантации клеток и тканей широко применяется низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) [19]. НИЛИ способно вызывать обратимые разнонаправленные эффекты. В зависимости от дозы, режима и области облучения НИЛИ может оказывать как иммуностимулирующее, так и иммуносупрессирующее действие, вызывать деструктивные изменения в тимусе и периферических лимфоидных органах [2, 3, 5, 7, 11, 13]. Показано

снижение чувствительности Т-лимфоцитов к чужеродному антигену, подавление активности антителообразования в В-лимфоцитах [12, 18]. Воздействие лазерного излучения может вызывать дисфункцию ретикулоэпителиальных клеток тимуса, способствуя нарушению синтеза важнейших тимических гормонов — тимозина- $\alpha$  и тимулина, недостаточность которых, в свою очередь, приводит к замедлению пролиферации и снижению функции тимоцитов и лимфоцитов [6, 9].

### Сведения об авторах:

Булякова Нелли Васильевна (e-mail: [bulyakova38@mail.ru](mailto:bulyakova38@mail.ru)), Азарова Валентина Сергеевна (e-mail: [vazarova@mail.ru](mailto:vazarova@mail.ru)), лаборатория морфологических адаптаций позвоночных, Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН, 119071, Москва, Ленинский пр., 33

В связи с этим вопрос о состоянии иммунной системы при использовании лазерного излучения для подготовки органов и тканей к аллопластике имеет большое практическое значение.

Цель данной работы — изучить возрастные особенности реактивных изменений в тимусе у крыс в ходе регенерации мышц при аллопластике области травмы мышечной ткани животного того же возраста и предварительного воздействия лучей гелий-неонового (He-Ne) лазера на мышцы реципиента, подготавливаемые к операции, или на мышцы донора, из которых будет извлечена мышечная ткань для аллопластики.

Материал и методы. Тимус был исследован у беспородных крыс-самцов в возрасте 1, 3–4 и 24–30 мес (по 24 животных в каждой возрастной группе) с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Животные каждой возрастной группы были разделены на 2 подгруппы. У крыс 1-й подгруппы (n=12) обе задние конечности в области проекции икроножных мышц перед операцией в течение 2 нед подвергали предварительному курсовому воздействию лазерных лучей. Крыс 2-й подгруппы (n=12) не облучали. На следующий день после лазерного воздействия между подгруппами облученных и необлученных животных была проведена перекрестная аллопластика правых икроножных мышц с помощью мышечной ткани, извлеченной в момент операции из левой икроножной мышцы. Крыс оперировали под нембуталовым наркозом (по 0,04 г/кг) в асептических условиях. В результате в 1-й серии были крысы-реципиенты (1-месячные, взрослые и старые) с необлученными икроножными мышцами и имплантированной в область травмы предварительно облученной лазером мышечной тканью. Во 2-й серии были крысы-реципиенты (1-месячные, взрослые и старые) с предварительно облученными икроножными мышцами и имплантированной в область травмы необлученной мышечной тканью. Условия воздействия He-Ne-лазера (установка ОКГ-12, Россия): длина волны 632,8 нм, лазерный луч был расфокусирован с помощью линзы, диаметр поля облучения 2–2,5 см, плотность мощности составляла 2,5–3 мВт/см<sup>2</sup>. Облучение проводили в режиме: 10 экспозиций по 3 мин в течение 2 нед за исключением выходных дней, суммарно в дозе 4,5–5,4 Дж/см<sup>2</sup> на каждую конечность. По завершении лазерного облучения каждая крыса получила дозу 9,0–10,8 Дж/см<sup>2</sup>. Животных выводили из опыта инъекцией больших доз нембутала. Крыс и их тимус взвешивали. Определяли относительную массу органа, принимая массу животного за 100%.

Тимус исследовали через 7, 14 и 30 сут после аллопластики области травмы икроножных мышц, а также перед операцией у необлученных крыс и у облученных крыс после 10 сеансов лазерного воздействия (по 4 крысы на каждый срок исследования). Поскольку в группе 1-месячных крысят животных начинали облучать за 2 нед до операции, был исследован также тимус необлученных 2-недельных животных. Тимус фиксировали в смеси Карнуа, срезы толщиной 7–8 мкм окрашивали гематоксилином по Рего с докраской по Маллори.

Относительную площадь коркового и мозгового вещества в дольках тимуса определяли с помощью тестовой окулярной сетки и бинокулярной лупы МБС-1 (ЛОМО, Россия) при увеличении 25. На 6–8 гистологических срезах, выбранных произвольно, подсчитывали количество точек, приходящихся

на корковое и мозговое вещество и выражали в процентах от общего количества точек, подсчитанных на всем срезе тимуса, принимая его за 100. Подсчет проводили только в дольках, сохранивших свою структуру. Отдельно в корковом и мозговом веществе определяли митотический индекс тимоцитов (МИ, %) и долю лимфоцитов с кариопикнозом (%). В корковом веществе было просчитано 3500–4500 клеток, в мозговом веществе — 2000–2500 клеток. Количественные данные обрабатывали статистически, различия средних величин оценивали по критерию Стьюдента и считали их значимыми при  $P < 0,05$ .

Результаты исследования. У интактных 1-месячных крысят тимус состоял из двух крупных долей. Граница между корковым и мозговым веществом была четкая, корковое вещество значительно превалировала над мозговым, тимоциты в корковом веществе располагались плотно.

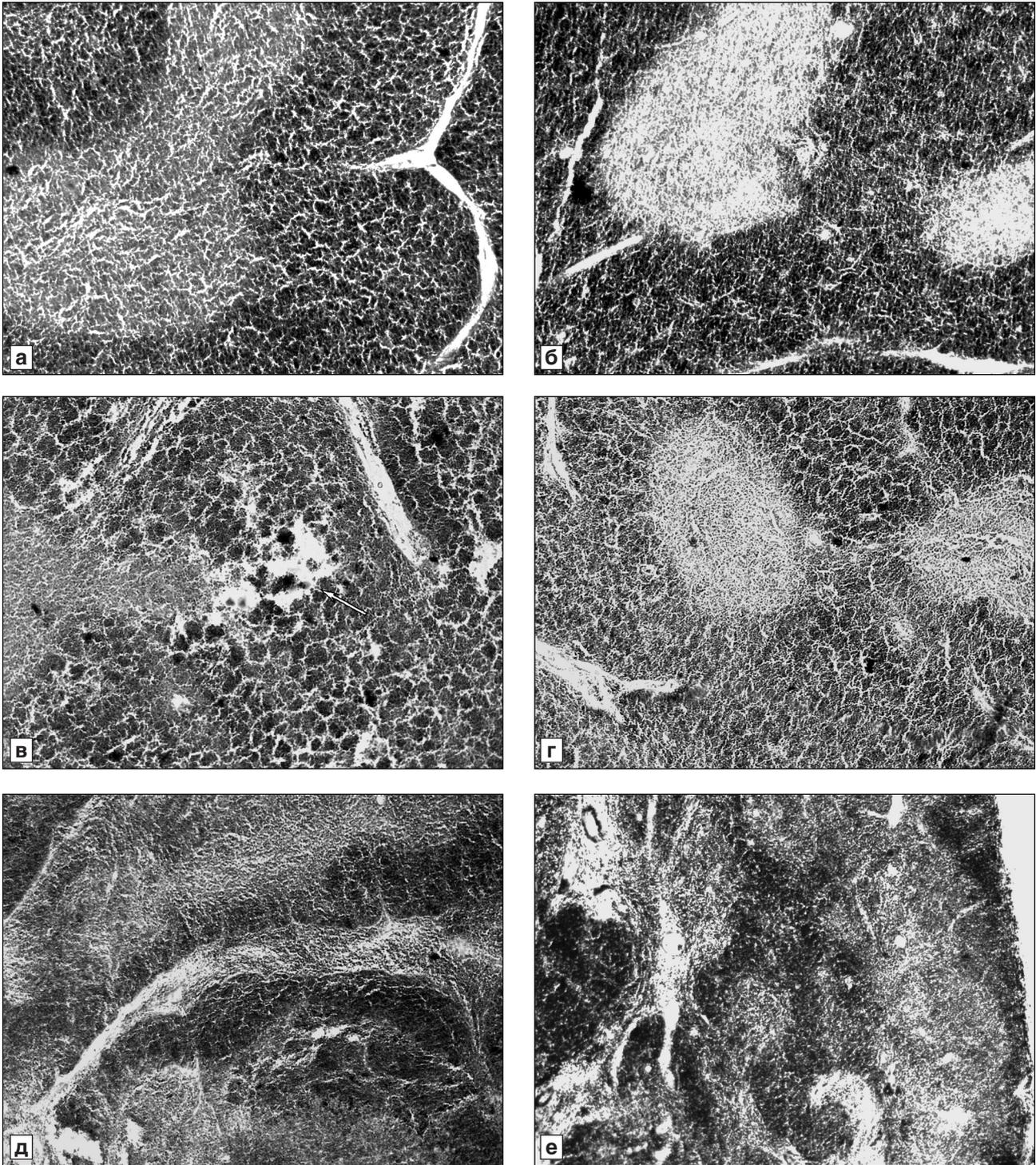
В 1-й серии опытов через 7 сут после аллопластики четкость границ между корковым и мозговым веществом сохранялась, в корковом веществе отмечалось рыхлое расположение тимоцитов (рисунки, а).

Через 14 сут реакция тимуса была более выражена. Визуально величина тимуса и площадь, занимаемая на срезе корковым веществом, уменьшались. В корковом веществе плотность расположения тимоцитов снижалась, отмечались небольшие очаги гибели лимфоцитов. На 30-е сутки тимус и количество коркового вещества в нем увеличивались, но описанные выше реактивные изменения в структуре тимуса местами сохранялись, что указывает на незавершенность процессов восстановления тимуса.

Во 2-й серии опытов предварительному воздействию лазерного облучения подвергались мышцы крысят 2-недельного возраста. В 1-месячном возрасте границы между корковым и мозговым веществом были четкие, но уже во всем корковом веществе отмечалось рыхлое расположение лимфоидных клеток. Через 7 и 14 сут после аллопластики структура тимуса практически не изменялась (см. рисунок, б). К концу наблюдения (30 сут) полного восстановления не наблюдалось. Корковое вещество в тимусных дольках было сравнительно толстым, но среди рыхло расположенных лимфоидных клеток встречались очаги гибели лимфоцитов.

Количественные показатели функционального состояния тимуса представлены в табл. 1.

В 1-й серии опытов через 7 сут после аллопластики масса тимуса не изменялась, относительная площадь коркового вещества уменьшалась, МИ тимоцитов увеличивался, доля лимфоцитов с кариопикнозом имела тенденцию к увеличению. Реакция мозгового вещества была



Тимус 1-месячных (а, б), 3–4-месячных (в, г) и 24–30-месячных (д, е) крыс через 7 сут (а–д) и 14 сут (е) после аллопластики области мышечной травмы мышечной тканью от животного того же возраста при различных режимах предварительного лазерного воздействия.

а — сравнительно плотное расположение тимоцитов, четкая граница между корковым и мозговым веществом и преобладание коркового вещества над мозговым в дольках тимуса, 1-я серия; б — сохранная структура долек и рыхлое расположение тимоцитов, 2-я серия; в — рыхлое расположение тимоцитов, очаги уменьшения содержания лимфоцитов в корковом веществе (стрелка), 1-я серия; г — незначительные изменения в структуре долек, четкая граница между корковым и мозговым веществом, расположение тимоцитов в виде разрыхленных агломератов, 2-я серия; д — дольки с относительно сохранившейся структурой, тонкий слой коркового вещества, 1-я серия; е — полная инволюция коркового и мозгового вещества, 2-я серия. Окраска гематоксилином и докраска по Маллори. Ув. 100

слабой. Через 14 сут по сравнению с 7-суточным сроком исследования реакция тимуса усиливалась, что могло быть связано с возросшей миграцией тимоцитов на периферию. Относительная масса тимуса резко снижалась и продолжала уменьшаться относительная площадь коркового вещества, доля лимфоцитов с кариопикнозом нарастала незначимо, но МИ тимоцитов сохранялся на высоком уровне. Усиливались реактивные изменения в мозговом веществе: увеличивались МИ тимоцитов и доля лимфоцитов с кариопикнозом. На 30-е сутки в тимусе отмечались процессы восстановления, но МИ тимоцитов в корковом веществе был в 1,2 раза ниже, чем в предыдущий срок исследования (наблюдалась тенденция к его снижению).

Во 2-й серии опытов предварительное воздействие лазерного облучения на мышцы 2-недельных крысят сдерживало увеличение относительной массы тимуса, но не оказывало значительного влияния на функциональные показатели органа (сравнить 1-месячных интактных крыс до операции и 1-месячных крыс до операции после 10 сеансов лазерного облучения). В ответ на введение генетически чужеродной ткани реактивные изменения в корковом и мозговом веществе тимуса были слабые. Через 7 сут после аллопластики только МИ тимоцитов в корковом веществе значимо снижался по сравнению с таковым у 1-месячных облученных крыс до операции. Реакция усиливалась на 14-е сутки, значимые изменения происходили как в корковом, так и в мозговом веществе. На 30-е сутки восстановительные процессы были менее активны. Несмотря на то, что характер изменения изученных параме-

Таблица 1

Характеристика функциональной активности тимуса у молодых крыс при аллопластике мышечной ткани в условиях предварительного лазерного облучения мышц донора или реципиента ( $\bar{X} \pm \bar{Sx}$ )

Объект исследования	Исследованные параметры	1-я серия: имплантация облученной лазером мышечной ткани донора в необлученную мышцу реципиента			2-я серия: имплантация необлученной лазером мышечной ткани донора в облученную мышцу реципиента				
		Срок исследования после аллопластики, сутки			2-недельные интактные крысята до облучения	1-месячные крысы до операции после 10 сеансов гелий-неонового лазера	Срок исследования после аллопластики, сутки		
		7-е	14-е	30-е			7-е	14-е	30-е
Тимус	Относительная масса, %	0,41±0,04	0,280±0,020**	0,33±0,04	0,390±0,002	0,360±0,020	0,380±0,020	0,280±0,010**	0,28±0,03
Корковое вещество тимуса	Относительная площадь на срезе, %	84,5±1,1	77,8±0,6**	81,0±1,5	84,2±0,4	85,7±1,7	84,0±0,4	77,0±0,8**	82,1±1,4**
	Митотический индекс тимоцитов, %	16,7±0,6	22,0±1,6	18,2±1,9	14,60±0,27	17,1±1,1	12,2±1,0*	19,9±1,6**	16,9±0,7
	Доля лимфоцитов с кариопикнозом, %	0,44±0,03	0,76±0,12	0,36±0,10**	0,330±0,010	0,33±0,07	0,31±0,05	0,77±0,04**	0,49±0,04**
Мозговое вещество тимуса	Относительная площадь на срезе, %	15,5±1,1	22,2±0,6**	19,0±1,5	15,8±0,4	14,3±1,7	16,0±0,4	23,0±0,8**	18,0±1,4**
	Митотический индекс тимоцитов, %	7,4±1,1	13,9±2,0**	14,7±1,1	9,5±0,5	9,0±1,0	7,9±1,3	12,8±1,9	11,0±1,4
	Доля лимфоцитов с кариопикнозом, %	0,48±0,04	0,78±0,10**	0,44±0,09**	0,610±0,010	0,38±0,07***	0,28±0,03	0,79±0,05**	0,58±0,10

\* Различия значимы по сравнению с показателями у крыс до операции; \*\* различия значимы по сравнению с показателями в предыдущий срок после аллопластики в каждой серии; \*\*\* различия значимы по сравнению с показателями у 2-недельных крысят при  $P < 0,05 - 0,01$ .

Таблица 2

Характеристика функциональной активности тимуса у взрослых крыс при аллопластике травмированных мышц мышечной ткани  
в условиях предварительного лазерного облучения мышц донора или реципиента ( $\bar{x} \pm \bar{s}$ )

Объект исследования	1-я серия: имплантация облученной лазером мышечной ткани донора в необлученную мышцу реципиента			2-я серия: имплантация необлученной лазером мышечной ткани донора в необлученную мышцу реципиента				
	Параметры	Срок исследования после аллопластики, сутки			3-4-месячные крысы до операции после 10 сеансов гелий-неонового лазера	Срок исследования после аллопластики, сутки		
		7-е	14-е	30-е		7-е	14-е	30-е
Тимус	Относительная масса, %	0,140±0,004	0,07±0,00**	0,140±0,010**	0,120±0,003***	0,160±0,010*	0,090±0,010**	0,13±0,00**
Корковое вещество тимуса	Относительная площадь на срезе, %	76,0±1,2	70,0±0,8**	81,1±0,8**	80,52±0,28***	78,0±1,0	70,1±1,0**	75,0±1,0**
	Митотический индекс тимоцитов, %	14,8±0,7	19,6±1,3**	10,9±1,0**	16,6±1,0	11,4±0,5*	16,51±0,11**	11,1±1,3**
	Доля лимфоцитов с кариопикнозом, %	0,41±0,03	0,640±0,020*	0,79±0,09	0,580±0,010***	0,59±0,05	0,72±0,13	0,54±0,04
Мозговое вещество тимуса	Относительная площадь на срезе, %	24,0±1,2	30,0±0,8**	18,9±0,8**	19,48±0,28***	22,0±1,0	29,9±1,0**	25,0±1,0**
	Митотический индекс тимоцитов, %	9,0±1,2	4,4±0,8	3,17±0,26	7,4±0,9	6,8±1,3	5,6±0,7	5,9±0,8
	Доля лимфоцитов с кариопикнозом, %	0,57±0,13	1,50±0,22**	0,83±0,11**	0,57±0,07	1,05±0,08*	1,4±0,5	0,96±0,04

\* Различия значимы по сравнению с показателями у крыс до операции в каждой серии; \*\* различия значимы по сравнению с показателями в предыдущий срок после аллопластики в каждой серии; \*\*\* различия значимы между показателями необлученных и облученных крыс до операции при  $P < 0,05-0,01$ .

тров был такой же, как и в 1-й серии опытов, активность восстановления во 2-й серии была ниже: более низкие относительная масса тимуса и МИ тимоцитов, чем на 14-е сутки исследования.

У интактных взрослых крыс (3-4-месячных) структура тимуса практически не отличалась от таковой у молодых животных. Лишь в некоторых местах отмечалось рыхлое расположение тимоцитов.

В 1-й серии опытов через 7 сут после аллопластики тимус был крупнее, чем у интактных животных, корковое вещество в нем преобладало над мозговым. В большинстве долек наблюдались агломерация тимоцитов, рыхлое расположение лимфоидных клеток и очаговая гибель лимфоцитов коркового вещества (см. рисунок, в). В дальнейшем реакция тимуса усиливалась. На 14-е сутки уменьшалась относительная площадь коркового вещества в дольках, везде отмечалось рыхлое расположение тимоцитов. Возросло количество очагов, и они стали крупнее. Через 30 сут процесс восстановления тимуса был не завершен. Относительная площадь коркового вещества увеличилась, но встречались дольки с нарушенной структурой.

Во 2-й серии опытов, после предварительного лазерного воздействия, величина тимуса у крыс перед операцией была меньше, чем у интактных необлученных взрослых животных. В дольках тимуса наблюдались довольно толстый слой коркового вещества и четкая граница между ним и мозговым веществом. Вместе с тем, во многих дольках в корковом веществе отмечались рыхлое расположение тимоцитов и очаги гибели лимфоцитов. Через 7 сут после аллопластики тимус выглядел крупнее, утолщались междольковые прослойки соединительной ткани, но структура долек тимуса изменялась незначительно по сравнению

с таковой в тимусе у крыс до операции (см. рисунок, г). На 14-е сутки структурные изменения в тимусе были выражены значительно. Четкость границы между корковым и мозговым веществом в дольках сохранялась, но количество коркового вещества уменьшалось. В нем чаще встречались очаги гибели лимфоцитов. На 30-е сутки после операции все еще отмечались структурные изменения в тимусных дольках.

Количественные показатели функционального состояния тимуса представлены в *табл. 2*. В 1-й серии опытов через 7 сут после аллопластики масса тимуса увеличивалась по сравнению с таковой у 3–4-месячных крыс до операции. На фоне увеличения относительного содержания коркового вещества в тимусе и доли лимфоцитов с кариопикнозом МИ тимоцитов снижался. Реакция мозгового вещества была слабой. Через 14 сут по сравнению с 7-суточным сроком исследования масса тимуса резко снижалась. Уменьшилась относительная площадь коркового вещества. МИ тимоцитов увеличивался при одновременном возрастании доли лимфоцитов с кариопикнозом. Усиливались реактивные изменения в мозговом веществе: на фоне лишь тенденции к снижению МИ тимоцитов значительно увеличивалась доля лимфоцитов с кариопикнозом. На 30-е сутки, по сравнению с предыдущим сроком исследования, в тимусе наблюдались процессы восстановления, увеличивалась относительная площадь коркового вещества, снижалась доля лимфоцитов с кариопикнозом как в корковом, так и в мозговом веществе, но МИ тимоцитов был сравнительно низким.

Во 2-й серии опытов при предварительном лазерном облучении мышц у взрослого реципиента масса тимуса перед операцией, по сравнению с таковой у интактных животных, снижалась, но показатели функциональной активности тимуса возрастали: увеличивалась относительная площадь коркового вещества, повышалась пролиферативная активность тимоцитов (тенденция к увеличению) и увеличивалась доля лимфоидных клеток с кариопикнозом. Однако реактивные изменения в ответ на введение генетически чужеродной ткани как в корковом, так и мозговом веществе тимуса были слабее, чем в 1-й серии опытов. Так, через 7 сут после аллопластики масса тимуса увеличивалась по сравнению с таковой у взрослых облученных крыс до операции, но в корковом веществе значительно снижался МИ тимоцитов, а в мозговом веществе увеличивалась доля лимфоцитов с кариопикнозом. На 14-е сутки реактивность тимуса повышалась, что выражалось в резком снижении массы тимуса, уменьшении относительной площади коркового вещества

и повышении в нем МИ тимоцитов. Показатели функциональной активности в мозговом веществе не изменялись. На 30-е сутки в тимусе также отмечалось увеличение некоторых функциональных показателей по сравнению с таковыми в предыдущий срок исследования, но МИ тимоцитов был на более низком уровне.

Тимус у старых крыс (24–30-месячных) был небольшого размера и состоял из двух узких неравных долей, в которых наблюдались разрастание соединительнотканной стромы и увеличение количества жировой ткани. В результате лимфоэпителиальная ткань в тимусе сохранялась лишь в виде отдельных островков (долек), разделенных жировой тканью. Мозговое вещество превалировало над корковым. Местами нарушалась четкость границ между ними.

В 1-й серии опытов через 7 сут после аллопластики в дольках тимуса с относительно сохранившейся структурой отмечались уменьшение относительной площади коркового вещества (см. рисунок, д), рыхлое расположение тимоцитов и увеличение доли лимфоцитов с кариопикнозом в нем. Оголялись большие участки ретикулоэпителиальной стромы. В дальнейшем в ходе восстановления оперированных мышц постепенно нарастало число долек с инволютивными изменениями. Через 14 сут после операции полная инволюция коркового и мозгового вещества наблюдалась уже во многих дольках, однако еще сохранялись дольки, в которых можно было определить их соотношение. К 30-м суткам тимус состоял из мелких долек. Отмечались как инволютивные изменения в них, так и формирующееся корковое вещество (в виде узкой прерывающейся полоски или более широкой непрерывной полосы).

Во 2-й серии опытов предварительное лазерное облучение икроножных мышц, подготавливаемых к аллопластике, оказывало угнетающее воздействие на тимус у старых крыс. Тимус был небольшого размера. В его дольках преобладали инволютивные изменения. Через 7 сут после аллопластики были обнаружены разрастание междольковой соединительной ткани и замещение лимфоэпителиальной ткани жировой. На 14-е сутки во всем тимусе наблюдалась полная инволюция коркового и мозгового вещества (см. рисунок, е). Через 30 сут в тимусе, по-видимому, начинались процессы восстановления. Так, уже в некоторых дольках отмечалось формирование тонкого коркового и широкого мозгового вещества, но четкая граница между ними видна была не везде. Количественные показатели функционального состояния тимуса представлены в *табл. 3*.

Таблица 3

**Характеристика функциональной активности тимуса у старых крыс при аллопластике травмированных мышц мышечной тканью в условиях предварительного лазерного облучения мышц донора или реципиента ( $\bar{x} \pm \bar{s}$ )**

Объект исследования	Параметры	1-я серия: имплантация облученной лазером мышечной ткани донора в необлученную мышцу реципиента				2-я серия: имплантация необлученной лазером мышечной ткани донора в облученную мышцу реципиента			
		24-месячные интактные крысы до операции		Срок исследования после аллопластики, сутки		24-месячные крысы до операции после 10 сеансов гелий-неонового лазера		Срок исследования после аллопластики, сутки	
		7-е	14-е	30-е	7-е	14-е	7-е	14-е	30-е
Тимус	Относительная масса, %	0,033±0,004	0,040±0,006	0,040±0,008	0,023±0,003	0,026±0,003	0,028±0,001	0,025±0,009	
Корковое вещество тимуса	Относительная площадь на срезе, %	45,0±0,5	52,00±0,05**	54,00±0,03**	51,00±0,010***	-	-	48,00±0,03**	
	Митотический индекс тимоцитов, %	8,7±1,5	6,030±0,010**	10,580±0,020**	6,9±0,5	-	-	10,0±0,8**	
	Доля лимфоцитов с кариопикнозом, %	0,40±0,03	0,180±0,020**	0,870±0,010**	0,88±0,10***	-	-	0,49±0,03**	
Мозговое вещество тимуса	Относительная площадь на срезе, %	55,0±0,5	48,00±0,05**	46,00±0,03**	49,00±0,010***	-	-	52,00±0,03**	
	Митотический индекс тимоцитов, %	6,0±1,9	5,930±0,020	8,99±0,09**	5,8±0,4	-	-	5,71±0,06	
	Доля лимфоцитов с кариопикнозом, %	0,35±0,14	0,40±0,16	0,20±0,010**	0,5±0,3	-	-	0,480±0,020	

\* Различия значимы по сравнению с показателями у крыс до операции; \*\* различия значимы по сравнению с показателями в предыдущий срок после аллопластики в каждой серии; \*\*\* различия значимы между показателями у необлученных и облученных крыс до операции при  $P < 0,05 - 0,01$ .

В 1-й серии опытов через 7 сут после аллопластики активность тимуса повышалась: значительно увеличивалась масса тимуса, а в сохранившихся дольках — относительная площадь коркового вещества и МИ тимоцитов. Доля лимфоцитов с кариопикнозом возрастала. На 14-е сутки эти показатели в корковом веществе снижались, но усиливалась реакция в мозговом веществе тимуса: увеличивался МИ тимоцитов, и намечалась тенденция к увеличению доли лимфоцитов с кариопикнозом. Через 30 сут там, где в дольках можно было разграничить корковое и мозговое вещество, были отмечены некоторые признаки восстановления (увеличение относительной площади коркового вещества и усиление в нем пролиферативной активности тимоцитов по сравнению с показателями на 14-е сутки). Однако масса тимуса не увеличилась по сравнению с массой тимуса у интактных старых крыс до операции.

Во 2-й серии опытов после лазерного воздействия функция тимуса перед операцией снижалась. Масса тимуса уменьшалась в 1,44 раза по сравнению с таковой у интактных необлученных животных. При этом, несмотря на увеличение относительной площади коркового вещества и доли лимфоцитов с кариопикнозом, МИ тимоцитов имел тенденцию к снижению. Реакция мозгового вещества в тимусе была слабой. Через 14 сут после аллопластики в дольках тимуса наблюдалась полная инволюция коркового и мозгового вещества, поэтому МИ и долю лимфоцитов с кариопикнозом в них определить не представлялось возможным. Через 30 сут тимус окончательно не был восстановлен. Несмотря на то, что масса тимуса была выше на 8,7%, чем масса тимуса у облученных крыс до операции, изменения функциональных показате-

лей были определены только в дольках, в которых уже различалось корковое и мозговое вещество. В большинстве долек наблюдались деструктивные изменения.

Обсуждение полученных данных. Полученные результаты показали, что в обеих сериях опытов у молодых, взрослых и старых крыс в тимусе наблюдались гистологические, морфометрические и цитологические изменения, свидетельствующие о происходящих функциональных перестройках.

Поскольку по условию эксперимента в каждой серии опытов одно и то же животное было и донором, и реципиентом, то генетические различия у животных обеих серий, т.е. варианты несовместимости мышечной ткани в обеих сериях, одинаковы, что позволило сравнить между собой результаты 1-й и 2-й серий.

Реакция тимуса на имплантацию генетически чужеродной ткани у животных всех исследованных возрастных групп в 1-й серии опытов (необлученный реципиент и облученный мышечный аллотрансплантат) была более активна, чем во 2-й серии (облученный реципиент и необлученный мышечный аллотрансплантат). Так, в каждой группе крыс в 1-й серии уже через 7 сут после аллопластики практически все изучаемые показатели морфофункционального состояния тимуса значимо отличались от таковых у интактных крыс соответствующего возраста до операции. Во 2-й серии опытов у всех предварительно облученных животных реакция тимуса на аллопластику была слабее. Через 7 сут после операции изменения затрагивали в основном МИ тимоцитов и проявлялись его значимым снижением в корковом веществе тимуса и наличием к снижению в мозговом веществе. У старых крыс на 14-е сутки наблюдалась полная инволюция коркового и мозгового вещества в дольках тимуса.

Выявленные различия в реакции тимуса на аллопластику у крыс в 1-й и 2-й сериях опытов, очевидно, объясняются неодинаковой активностью тимуса, соответственно, у необлученных и облученных крыс-реципиентов перед операцией. Регистрируемые морфофункциональные изменения в тимусе облученных He-Ne-лазером крыс-реципиентов перед операцией и в ходе последующего восстановления мышц после аллопластики (2-я серия) говорят о его более низкой функции. Подобные структурные и цитологические изменения в тимусе крыс-реципиентов были описаны некоторыми исследователями ранее при ксенопластике кожного лоскута в условиях подавления

иммунной активности с помощью введения иммунодепрессантов [8].

По условию эксперимента предварительному курсовому лазерному облучению подвергались задние конечности крыс в области проекции икроножных мышц. Многочисленные данные литературы свидетельствуют о возможности дистанционного влияния на иммунную систему организма при воздействии лазера на различные участки поверхности кожи, в том числе и при облучении задних конечностей [2, 3, 5, 7, 11, 13]. Согласно современным представлениям, кожный покров вместе с другими органами представляет единую диффузную нейроиммуноэндокринную систему [10, 14]. В эпидермисе и дерме кожи, как известно, присутствуют иммунные клетки: кератиноциты, клетки Лангерганса и эпидермотропные Т-лимфоциты [17, 20]. Кератиноциты содержат тимопоэтин и тимический фактор и способствуют созреванию Т-лимфоцитов подобно кортикальному эпителию в тимусе. Воздействие лазерного облучения стимулирует пролиферацию кератиноцитов [21], выработку ангиогенного фактора Т-лимфоцитами [16]. При транскутанном воздействии лазерного света в тканях улучшается микроциркуляция, в плазме циркулирующей крови повышаются концентрации ростовых факторов и цитокинов, способных влиять на лимфоидную ткань [4].

Воздействие лазерного излучения, как и любого другого внешнего фактора, способствует развитию общего адаптационного синдрома и активации стрессреализующих систем организма [3, 9]. Результаты данного исследования показали, что в условиях лазерного воздействия повреждения скелетных мышц и имплантации генетически чужеродной ткани в травмированные скелетные мышцы стрессорный эффект усиливается, и возрастает нагрузка на тимус у крыс-реципиентов. Но изменения морфофункциональной активности тимуса различались как в зависимости от условий воздействия He-Ne-лазера (на мышцу реципиента или имплантируемую мышечную ткань), так и возраста животного. У предварительно облученных лазером 1-месячных крысят перед операцией значимых изменений исследуемых показателей не наблюдалось по сравнению с интактными необлученными животными того же возраста. Можно отметить лишь тенденцию к снижению массы тимуса. У взрослых крыс, несмотря на увеличение ширины коркового вещества в дольках тимуса, усиливался пикноз лимфоцитов и значимо снижалась масса тимуса. У облученных старых крыс перед операцией к тому же наблюдалась тенденция к снижению МИ тимоцитов. Реакция тимуса

после аллопластики скелетных мышц (снижение пролиферативной активности тимоцитов на 7-е сутки у молодых и взрослых крыс и инволюция в дольках тимуса в течение 14 сут у старых крыс) также говорит о том, что функция тимуса была снижена перед операцией. Как известно, повышение митотической активности тимоцитов направлено, прежде всего, на восстановление тимуса [1].

Отмеченные различия, очевидно, связаны с возрастной инволюцией иммунной системы. Согласно современным представлениям [15], у молодых крыс миграция, пролиферация, созревание тимоцитов, секреторная активность эпителиальных клеток довольно активны. С увеличением возраста животных постепенно снижаются абсолютная масса тимуса, количество лимфоидной ткани и увеличивается площадь, занимаемая соединительнотканной стромой и жировой тканью. Нарушается кортико-медуллярная структура органа, ослабляется функция кортико-медуллярного барьера, что приводит к миграции в кору тимуса нехарактерных для нее клеток, например, В-лимфоцитов. Снижаются пролиферативная и секреторная активность эпителиальных клеток и концентрация гормонов в тимусе. При старении активизируются тучные клетки, макрофаги. Однако тимус у старых животных полностью не утрачивает своих функций, и миграция лимфоидных клеток и секреция тимусных гормонов продолжают, но, как установлено, на сравнительно низком уровне. Изменения функциональных показателей в тимусе старых крыс, отмеченные нами в обеих сериях опытов, подтверждают этот факт.

Итак, предварительное воздействие He-Ne-лазера в изученных дозе и режиме облучения на мышечный аллотрансплантат (1-я серия) или на мышцу, подготавливаемую к операции (2-я серия), оказывает влияние на функциональную активность тимуса реципиента. При этом, у молодых, взрослых и старых крыс-реципиентов во 2-й серии опытов предварительное лазерное облучение снижало функцию тимуса перед операцией, что выражалось в уменьшении реактивных изменений в ответ на аллопластику в начальные сроки восстановительного процесса в мышцах. Эффект нарастал с увеличением возраста животного.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Бабаева А.Г. Регенерация и система иммуногенеза. М.: Медицина, 1985.
- Бугаева И.О. Влияние низкоинтенсивного инфракрасного лазерного излучения на органы иммуногенеза: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Саратов, 2006.
- Глушкова О.В., Новоселова Е.Г., Черепков Д.А. и др. Эффекты облучения разных участков кожи мышей-опухоленосителей низкоинтенсивным лазерным светом // Биофизика. 2006. Т. 51, № 1. С. 123–125.
- Зубанова О.И. Влияние растворимых факторов фотомодифицированной крови на репарацию ДНК и пролиферацию поврежденных радиацией лимфоцитов человека: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2003.
- Кончугова Т.В., Першин С.Б., Миненков А.А. Иммунная супрессия при локальных воздействиях низкоэнергетическим лазерным излучением инфракрасного диапазона // Вопр. курортол. 1992. № 3. С. 57–59.
- Кончугова Т.В., Комарова Н.И., Шарова Н.И. Экспериментальное исследование влияния инфракрасного низкоэнергетического лазерного излучения на выработку тимических гормонов // Иммунология. 1995. № 3. С. 34–36.
- Новоселова Е.Г., Черепков Д.А., Глушкова О.В. и др. Действие низкоинтенсивного лазерного излучения (632.8 нм) на изолированные клетки иммунной системы мышей // Биофизика. 2006. Т. 51, № 3. С. 509–518.
- Пучков В.Ф., Смирнов Е.Б., Отеллин В.А. Реакция тимуса крысы на ксенотрансплантацию и иммуносупрессию // Морфология. 1998. Т. 114, вып. 4. С. 59–64.
- Севостьянова Н.Н., Трофимов А.В., Линькова Н.С. и др. Индуцированное старение тимуса: радиационная модель и перспективы применения низкоинтенсивного лазерного излучения // Успехи геронтологии. 2010. Т. 23, № 4. С. 547–553.
- Смирнова И.О., Кветной И.М., Князькин И.В., Данилов С.И. Нейроиммуноэндокринология кожи и молекулярные маркеры ее старения. СПб.: ДЕАН, 2005.
- Улащик В.С. Иммуномодулирующее действие лечебных физических факторов // Медицинские новости. 2006. № 11. С. 8–13.
- Федорчук А.Г., Скивка Л.М. Влияние лазерного облучения крови на некоторые показатели иммунитета у мышей // Действие низкоэнергетического лазерного излучения на кровь. Киев: Наук. думка, 1989. С. 48–49.
- Харин Г.М. Изменения цитоархитектоники лимфоидных органов при воздействии на организм лазерного излучения // Применение лазеров в хирургии и медицине. Ч. 1. М.: ВИНТИ, 1989. С. 567–569.
- Ярилин А. Кожа и иммунная система // Косметика и Медицина. 2001. № 2. С. 5–13.
- Ярилин А.А. Иммунология. М.: Медицина, 2010.
- Agaiby A.D., Ghali L.R., Wilson R., Dyson M. Laser modulation of angiogenic factor production by T-lymphocytes // Lasers Surg. Med. 2000. Vol. 26, № 4. P. 357–363.
- Bos J.D., Kapsenberg M.L. The skin immune system. Its cellular constituents and their interactions // Immunol. Today. 1986. Vol. 7, № 7–8. P. 235–240.
- Mester E., Nagylucskay S., Tisza S., Mester A. Stimulation of wound healing by means of laser rays: investigation of the effect on immune competent cells // Acta Chir. Acad. Sci. Hung. 1978. Vol. 19. P. 163–170.
- Walsh L.J. The use of lasers in implantology: an overview // J. Oral. Implantol. 1992. Vol. 18, № 4. P. 335–340.

20. Williams I. R., Kupper T. S. Immunity at the surface: homeostatic mechanisms of the skin immune system // *Life Sci.* 1996. Vol. 58, № 18. P. 1485–1507.
21. Yu H.S., Chang K.L., Yu C.L. et al. Low-energy helium-neon laser irradiation stimulates interleukin-1 alpha and interleukin-8 release from cultured human keratinocytes // *J. Invest. Dermatol.* 1996. Vol. 107. P. 593–596.

Поступила в редакцию 29.04.2014  
Получена после доработки 02.12.2014

**AGE-RELATED PECULIARITIES OF THYMUS REACTION TO THE EXPOSURE TO HELIUM-NEON LASER AND INJURED MUSCLE ALLOPLASTY WITH THE MUSCLE TISSUE FROM THE ANIMALS OF THE SAME AGE**

*N.V.Bulyakova, V.S.Azarova*

Histological, cytological and morphometric changes in the thymus of 1 month-old, adult (3–4 months-old) and old (24–30

months-old) rats (24 animals in each group) were studied during muscle regeneration after the alloplasty of the injured area with the muscle tissue from the animal of the same age. Muscles of the donor or recipient were subjected to the course of preliminary irradiation with He-Ne laser (dose: 4.5–5.4 J/cm<sup>2</sup> for each extremity; total dose of 9.0–10.8 J/cm<sup>2</sup> per animal). It was shown that the exposure of gastrocnemius muscles that were prepared for the operation to He-Ne laser radiation decreased morpho-functional activity of the thymus in young, adult and old recipient rats the before surgery. This was demonstrated by its weaker reaction to the allograft during the early time intervals after surgery. The observed effect was more pronounced with the increasing age of an animal.

**Key words:** *thymus, muscle injury, alloplasty, age, He-Ne laser*

Laboratory of Morphological Adaptations of the Vertebrates, RAS A.N.Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Moscow