

Николайчук Кирилл Михайлович, студент института медицины и психологии имени Зельмана, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный университет», г. Новосибирск

Федотова Марина Сергеевна, студент института медицины и психологии имени Зельмана, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный университет», г. Новосибирск

Быстрова Валерия Игоревна, студент института медицины и психологии имени Зельмана, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный университет», г. Новосибирск

Веретенко Анастасия Сергеевна, студент института медицины и психологии имени Зельмана, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный университет», г. Новосибирск

Филиппова Анастасия Юрьевна, студент института медицины и психологии имени Зельмана, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный университет», г. Новосибирск

Чечеткина Софья Александровна, студент института медицины и психологии имени Зельмана, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный университет», г. Новосибирск

Горчакова Ольга Владимировна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник, НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск

СТРУКТУРНО-ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИДРАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТРАХЕОБРОНХИАЛЬНОГО ЛИМФОУЗЛА В РАЗНЫЕ ВОЗРАСТНЫЕ ПЕРИОДЫ

Аннотация: При старении наблюдается перестройка организма, на фоне которой лимфатическая система и лимфоузлы, в частности, подвергаются возраст-обусловленным преобразованиям. Последние приводят к потере

функциональности. Основной целью данного исследования было изучение взаимосвязи между структурно-клеточной организацией и гидратационными параметрами лимфоузла, подверженного возрастным изменениям в бронхопульмональном лимфатическом регионе. В работе использованы термогравиметрический, гистологический и статистический методы. Показана связь между клеточным профилем компартментов и степенью гидратации лимфоузла в различные возрастные периоды.

Ключевые слова: лимфатический регион, трахеобронхиальные лимфоузлы, гидратация.

Annotation: With aging, there is a restructuring of the body, against which the lymphatic system and lymph nodes, in particular, undergo age-related transformations. The latter lead to loss of functionality. The main purpose of this study was to study the relationship between the structural-cellular organization and hydration parameters of the lymph node, subject to age-related changes in the bronchopulmonary lymphatic region. Thermogravimetric, histological and statistical methods were used in the work. The relationship between the cellular profile of compartments and the degree of hydration of the lymph node in different age periods was shown.

Key words: lymphatic region, tracheobronchial lymph nodes, hydration.

Введение

Морфофункциональное состояние трахеобронхиальных лимфоузлов тесно связано с дренированием органов бронхолегочной системы. Очевидно, что изменение функции этих органов вызывает определенную перестройку лимфоузлов в разные периоды жизни. Старение нарушает работоспособность лимфатической системы, что является одной из причин нарушения жидкостного гомеостаза. В свою очередь степень изменения гидратации определяет морфофункциональные характеристики лимфоузла. Очевидно, что водный баланс рассматривается как показатель для оценки дренажной и иммунной функции лимфатических узлов, принадлежащих к определенному

лимфатическому региону. Понимание взаимосвязи между гидратационными и структурно-функциональными характеристиками имеет значение для прогноза возраст-индуцированных изменений лимфатических узлов. Это делает актуальным цель работы по изучению структурно-клеточных и гидратационных характеристик трахеобронхиального лимфоузла в процессе онтогенеза.

Материалы и методы

Для проведения исследования в работе было использовано 50 белых крыс-самцов Wistar двух возрастных категорий: молодые (возраст 3–5 месяцев) и старые (возраст 16–18 месяцев). Данные возрастные группы животных выбраны при сравнительном определении соотношения продолжительности жизни крыс и человека с помощью коэффициента 1,7 [3]. Данный коэффициент позволил сопоставить молодых животных с юношеским возрастом человека (16–20 лет) и старых животных со стариками (65–75 лет). Животные в качестве питания получали экструдированный комбикорм ПК-120-1 и имели свободный доступ к воде. В качестве объекта исследования были выбраны – трахеобронхиальные лимфатические узлы. Выбор исследуемой группы лимфатических узлов осуществляли в соответствии с принципами экологической лимфологии [6; 7; 9]. Исследование выполнено с помощью следующих методов:

Гистологический метод – основной метод исследования клеток и размеров компартментов лимфатического узла. В основе метода лежит использование световой микроскопии и определённого алгоритма оценки структурно-клеточной организации лимфоузла [5; 11]. Для этого трахеобронхиальных лимфоузлов фиксировали в 10% нейтральном формалине с последующим выполнением классической схемы проводки и заливки материала в парафин и приготовлением гистологических срезов. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, азур-эозином, толуидиновым синим, трихромным красителем по С. Masson. Проводили морфометрический анализ при помощи морфометрической сетки, устанавливаемой на срез лимфоузла, с определением удельной площади компартментов лимфатических узлов [4; 8]. Дополнительно в структурно-функциональных зонах лимфоузлов осуществлялся подсчет клеток

на стандартной площади 2025 мкм^2 при увеличении микроскопа в 900 раз.

Термогравиметрический метод – это метод, позволяющий исследовать гидратационные параметры лимфатического узла. Выбранная методика проводится в соответствии с рекомендациями Н.Ф. Фаращука [10]. Принцип метода заключается в высушивании лимфоузлов при постоянной температуре с фиксацией на аналитических весах изменений массы лимфоузла. На основе известных характеристики объема органа и площади его компартментов производился расчет объема жидкости, приходящейся на определенный компартмент лимфатического узла в соответствии с принципом Кавальери–Акера–Глаголева [8].

Статистическая обработка полученных результатов осуществляется с помощью программы Excel и StatPlus Pro, AnalystSoft Inc.

Результаты и обсуждения.

Регуляция жидкостного обмена в пределах лимфатического региона определяется соответствующими регионарными лимфатическими узлами [1; 2]. В ходе работы была определена связь между гидратационными параметрами и структурно-функциональными характеристиками лимфоузлов трахеобронхиального лимфатического региона в разные возрастные периоды.

Трахеобронхиальные лимфоузлы в молодом возрасте содержат жидкость в пределах $10,71 \text{ мм}^3$ (в долевым выражении 65%), в массовом выражении на воду приходится около 14,28 мг. Объем лимфы в синусной системе составил порядка $2,55 \text{ мм}^3$ (в долевым выражении 23,8%), а объем межклеточной жидкости $2,33 \text{ мм}^3$ (в долевым выражении 21,7%). Водные фракции в молодом трахеобронхиальном лимфатическом узле представлены следующим образом: свободная вода – $4,88 \text{ мм}^3$, связанная вода – $5,83 \text{ мм}^3$. Коэффициент гидратации, показывающий отношения свободной и связанной фракций воды, в лимфоузлах молодых животных составляет – 1,19. Такой показатель коэффициента гидратации свидетельствует о равномерном распределении водных фракций.

Исследование показало, что с возрастом имеет место возраст-индуцированная дегидратация в трахеобронхиальных лимфатических узлах. Так

в лимфоузлах старых животных отмечено снижение общей воды на 8,2%. Дополнительно фиксируется резкое снижение объема межклеточной жидкости у старых животных, показатель последней составляет 0,71 мм³ (в долевым выражении 7,2%). Помимо этого, с возрастом отмечается подъем коэффициента гидратации в 2 раза, что отражает уменьшение свободной фракции воды в структуре лимфоузла из-за уменьшения объема жидкости в лимфатических синусах. Потери водного компонента отражается на размерности всех структурно-функциональных зон лимфоузла, что сопровождается с одной стороны снижением транзита лимфы, а с другой разрастание соединительнотканного компонента.

Трахеобронхиальный лимфоузел относится к лимфоузлам с компактным морфотипом, что отражает величина корково-мозгового соотношения (индекс К/М). У молодых животных данный показатель составляет 2,32. В молодом возрасте анатомическая конструкция трахеобронхиального лимфатического узла отмечена высокой долей лимфоидных узелков, межузелковой частью коры, паракортикальной областью и мозговыми тяжами (табл. 2). В корковом веществе преобладают лимфоидные узелки с герминативным центром, что указывает на высокую лимфопролиферативную активность в молодом возрасте (табл. 2). Синусная система трахеобронхиальных лимфоузлов не имеет больших размеров и представлена: субкапсулярным и мозговым лимфатическими синусами.

При старении фиксируется еще большая компактизация лимфоузла, что приводит к увеличению индекса К/М, величина которого составляет 2,86 на поздних этапах онтогенеза. Это связано с тем, что доля коркового вещества возрастает из-за выраженного уменьшения площади лимфатических синусов в период старения (табл. 2). Вместе с тем в корковом веществе происходит уменьшение межузелковой части коры (в 1,4 раза), лимфоидных узелков с герминативным центром (в 2,7 раза), паракортикальной области (в 1,3 раза) (табл. 2). Исследования показали возрастное увеличение соединительной ткани, проявляющиеся разрастанием соединительной капсулы в 3 раза (табл. 2) и

развитием соединительной ткани вокруг сосудов. Отмеченные изменения указывают на инволюцию лимфоидной ткани, сопровождающуюся снижением дренажной и иммунной функций лимфоузла.

Клеточный состав молодых трахеобронхиальных лимфоузлов, определяет иммуноморфологический статус в лимфатическом регионе бронхопульмональной системы. Для трахеобронхиального лимфоузла молодых животных характерно наличие многих клеток лимфоидного ряда, среди которых преобладают лимфоциты (табл. 3). В структуре лимфоидных узелков преобладают бласты, средние и малые лимфоциты, при этом отсутствуют плазмциты и тучные клетки. Паракортикальная область преимущественно представлена малыми и средними лимфоцитами. Среди клеток мозговых тяжей больше всего лимфоцитов и плазмцитов на разной стадии дифференцировки, в меньшей степени представлены макрофаги и ретикулярные клетки. Мозговые лимфатические синусы преимущественно содержат малые лимфоциты, в меньшем количестве макрофаги, ретикулярные клетки и плазмциты. Особенностью субкапсулярного лимфатического синуса является скопление макрофагов.

По мере старения в структурно-функциональных зонах трахеобронхиальных лимфатических узлов наблюдается изменение клеточного профиля (табл. 3). Так в лимфоидных узелках снижается количество лимфобластов в 2,8 раза, средних лимфоцитов в 1,5 раза и макрофагов в 1,9 раза, однако число малых лимфоцитов не изменилось в сравнении с молодыми животными. В паракортикальной области уменьшилась численная плотность малых и средних лимфоцитов (в 1,3 и 1,7 раза соответственно), лимфобластов (в 1,7 раза), плазмцитов (в 2,5 раза) и увеличилось в 2,1 раза число ретикулярных клеток. В мозговых тяжах отмечено уменьшение в 1,3 раза числа лимфобластов (плазмобластов), в 1,2 раза плазмцитов и увеличение в 1,8 раза числа эозинофильных гранулоцитов (табл. 3). В мозговом лимфатическом синусе уменьшилось в 1,2 раза число лимфоцитов, остальные клетки не показали статистической достоверности (табл. 3). Изменение клеточного профиля

компартов трахеобронхиального лимфатического узла связано с инволюцией лимфоидной ткани. Закономерным является уменьшение численной плотности бластов, лимфоцитов во всех структурно-функциональных зонах на фоне увеличения ретикулярных клеток и появления клеток с признаками деструкции.

Выводы

Трахеобронхиальный лимфоузел обеспечивает отток лимфы от органов бронхолегочной системы. Действие факторов внешней среды обуславливает особенности гидратации и структурно-клеточной организации лимфоузлов в разные периоды жизни. Для молодого возраста характерна высокая иммунная активность, чему соответствует определенный морфотип лимфоузла с достаточным уровнем гидратации.

С возрастом инволюции лимфоидной ткани сопровождается потерей водного компонента (дегидратация) на фоне уменьшения размерности компартов с изменением их клеточного профиля в лимфоузле. Происходит уменьшение численной плотности бластов, лимфоцитов во всех структурно-функциональных зонах лимфоузла на фоне увеличения ретикулярных клеток и появления клеток с признаками деструкции. Все это является морфологическими проявлениями старения, обуславливающие снижение работоспособности лимфоузла.

Изменение структурно-цитологических и гидратационных характеристик трахеобронхиального лимфоузла можно рассматривать как своеобразные маркеры для прогноза старения.

Таблица 1. Гидратационные характеристики трахеобронхиального лимфатического узла молодых и старых животных

Параметр	Молодые животные (n=40)	Старые животные (n=40)
Объем воды, %	63,89±0,96	58,65±0,62 [#]
Масса воды, мг	14,28±0,46	4,48±1,05 [#]
Объем лимфы в синусах, мм ³	2,55±0,21	2,19±0,32*
Объем межклеточной жидкости, мм ³	2,33±0,42	0,71±0,19 ^{##}
Объем общей воды, мм ³	10,71±0,55	9,93±1,03*

Объем свободной воды, мм ³	4,88±0,47	2,90±0,36 ^{##}
Объем связанной воды, мм ³	5,83±0,28	7,03±0,73*
Коэффициент гидратации	1,19±0,06	2,42±0,08 [#]
Плотность	1,55±0,14	1,30±0,27*

P > 0,05*; P < 0,001[#]; P < 0,01^{##};

Таблица 2. Возраст-индуцированная перестройка структуры трахеобронхиального лимфоузла при старении

Структура лимфоузла и индексы	Молодые животные (n=20)	Старые животные (n=20)
Капсула	1,56±0,15	1,45±0,14*
Субкапсулярный синус	1,45±0,17	1,68±0,15*
Межузелковая часть коры	4,94±0,62	5,45±0,61*
Лимфоидный узелок без герминативного центра (Ф ₁)	1,97±0,12	2,19±0,12*
Лимфоидный узелок с герминативным центром (Ф ₂)	3,85±0,20	4,71±0,29**
Паракортикальная область	9,01±0,76	10,54±0,27*
Мозговые тяжи	8,33±0,29	9,87±0,36 [#]
Мозговой лимфатический синус	1,47±0,34	2,38±0,34*
Корково-мозговое соотношение (индекс К/М)	2,32±0,08	2,12±0,12*

P > 0,05*; P < 0,05**; P < 0,01[#];

Таблица 3. Количественная характеристика клеток на единице площади структурно-функциональных зон трахеобронхиального лимфоузла молодых и старых животных

Компартмент	Клетки	Молодые животные	Старые животные
Лимфоидные узелки	Лимфобласты	4,61±0,18	5,38±0,23**
	Средние лимфоциты	11,68±0,39	9,05±0,28 [#]
	Малые лимфоциты	10,49±0,23	13,63±0,30 [#]
	Макрофаги	3,59±0,09	3,35±0,16*
Паракортикальная область	Лимфобласты	2,85±0,12	3,48±0,12 [#]
	Средние лимфоциты	7,07±0,23	6,20±0,16 ^{##}
	Малые лимфоциты	9,68±0,23	10,35±0,46*
	Ретикулярные клетки	1,27±0,09	1,33±0,09*
	Макрофаги	1,37±0,07	1,83±0,14 ^{##}
	Плазмоциты	2,10±0,09	2,08±0,09*
	Эозинофильные гранулоциты	0,20±0,02	0,28±0,02 ^{##}
Мозговые тяжи	Плазмобласты	2,01±0,09	1,63±0,09 ^{##}
	Плазмоциты	4,73±0,18	5,72±0,27 ^{##}
	Малые лимфоциты	5,39±0,18	6,83±0,23 [#]
	Средние лимфоциты	5,54±0,16	5,43±0,16*
	Макрофаги	2,66±0,09	2,33±0,14*

	Ретикулярные клетки	1,27±0,07	1,13±0,07*
	Эозинофильные гранулоциты	0,24±0,02	0,25±0,02*
Мозговой лимфатический синус	Малые лимфоциты	8,01±0,21	8,55±0,30*
	Макрофаги	2,37±0,12	2,80±0,14**
	Ретикулярные клетки	1,66±0,05	1,30±0,05 [#]
	Плазмоциты	1,37±0,07	1,78±0,09 ^{##}
	Эозинофильные гранулоциты	0,20±0,02	0,15±0,02*

P > 0,05*; P < 0,001[#]; P < 0,05**; P < 0,01^{##};

Библиографический список:

1. Бородин Ю.И. Лимфатическая система и старение // *Фундаментальные исследования*, 2011. – № 5. – С.11–15.

2. Бородин Ю.И., Горчакова О.В., Суховершин А.В., Горчаков В.Н. Концепция лимфатического региона в профилактической лимфологии. – LAP LAMBERT Academic Publishing, 2018. – 73 с.

3. Popov V.V., Demchenko G.A., Gorchakova O.V., Gorchakov V.N. Structural features of lymph nodes in different lymphatic regions at the natural and accelerated aging // *European Journal of Natural History*, 2020. – № 4. – P.19–23.

4. Автандилов, Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.

5. Белянин, В.Л. Диагностика реактивных гиперплазий лимфатических узлов / В.Л. Белянин, Д.Э. Цыплаков. – Санкт-Петербург-Казань: Типография издательства «Чувашия», 1999. – 328 с.

6. Бородин, Ю.И. Лимфатическая система и старение / Ю.И. Бородин // *Фундаментальные исследования*, 2011. – № 5. – С.11–15

7. Бородин, Ю.И. Эффекты лимфокоррекции и лимфопротекции при термическом ожоге кожи / Ю.И. Бородин, Н.П. Бгатова // Тезисы IV съезда лимфологов России. – М.: Проспект, 2011. – С.12-13.

8. Гуцол, А.А. Практическая морфометрия органов и тканей / А.А. Гуцол, Б.Ю. Кондратьев / Под ред. Г.Г. Автандилова. – Томск: Изд-во Том. ун-та 1988. – 133с.

9. Структурно-временная организация печени, лимфатической, иммунной, эндокринной систем при нарушении светового режима и введении мелатонина /

Ю.И. Бородин, В.А. Труфакин, С.В. Мичурина, А.В. Шурлыгина. – Новосибирск: Издат. дом «Манускрипт», 2012. – 234 с.

10. Фаращук, Н.Ф. Состояние процессов гидратации в жидких средах при воздействии внешних факторов и некоторых заболеваний: Дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.16 / Фаращук Николай Федорович. – Смоленск, 1994. – 262 с.

11. Cottier, H. Предложения по стандартизации описания гистологии лимфатического узла человека в связи с иммунологической функцией / H. Cottier, J. Turk, L. Sobin // Бюлл. ВОЗ. – 1973. – С.372–377.