

ФИТОСТИМУЛЯЦИЯ ТРАХЕОБРОНХИАЛЬНОГО ЛИМФОУЗЛА НА ПОЗДНИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА

К.М. Николайчук¹, студент

В.И. Быстрова¹, студент

М.С. Федотова¹, студент

Е.И. Джугашвили¹, студент

А.Ю. Филиппова¹, студент

И.Д. Левченко¹, студент

О.В. Горчакова², канд. мед. наук, науч. сотр.

¹Новосибирский государственный университет

²НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ИЦиГ СО РАН
(Россия, г. Новосибирск)

DOI:10.24412/2500-1000-2022-10-1-103-108

Аннотация. В процессе онтогенеза все системы организма претерпевают возраст-обусловленные изменения, особенно лимфатическая система. Старческие изменения лимфатической системы, в том числе и лимфоузлов, приводят к потерям их эффективности по обеспечению эндоэкологической защиты. В эксперименте исследована способность оригинального фитосредства корректировать структурно-функциональные параметры трахеобронхиального лимфоузла с учетом гидратации. Основными действующими веществами являются биофлавоноиды растений, обладающих позитивным эффектом на органы и системы. Фитостимуляция оказывает структурно-модифицирующий эффект, избирательно влияя на компартменты и оптимизируя параметры гидратации трахеобронхиального лимфоузла, претерпевшего старческие изменения. Применение фитотерапии повышает работоспособность лимфоузла, что дает право использовать фитосредство в оздоровительных программах антиявления.

Ключевые слова: лимфатический регион, лимфоузлы, гидратация, фитотерапия, биофлавоноиды.

Трахеобронхиальные лимфоузлы – это лимфоузлы с компактным морфотипом преимущественно выполняющие иммунную функцию в своем лимфатическом регионе, что определяется соответствующей структурно-клеточной организацией лимфоидной ткани [1, 2] в сопоставлении с гидратационными параметрами. При старении снижается функциональная активность органов и систем организма, что определяет необходимость поиска средств, усиливающих их работоспособность и особенно лимфоузлов, обеспечивающих защиту на разных уровнях лимфатического региона. Ряд методов, оказывающих лимфотропное и лимфостимулирующее действие на лимфатические узлы находятся на стадии разработки [3, 4, 5]. Заслуживает внимание фитотерапия. Основным действующим биоактивным веществом растений являются биофлавоноиды, обладающие полифункциональным действи-

ем [6]. В связи с этим представляется важным оценить эффективность оригинальной фитокомпозиции в коррекции морфофункциональных параметров лимфоузла с целью замедления старения.

Способность корректировать морфофункциональные параметры позволяют замедлять преждевременное старение органов лимфатической системы [7, 8]. Все это делает актуальным поиск средств с лимфотропным эффектом, способных корректировать морфофункциональные характеристики стареющего лимфоузла за счет изменения структуры и степени гидратации.

Таким образом основной целью работы являлось изучить способность оригинального фитосредства корректировать морфофункциональные параметры лимфоузлов трахеобронхиального лимфатического региона с учетом параметров гидратации на поздних этапах онтогенеза.

Материалы и методы

Эксперимент был проведен на 50 белых крысах самцах Wistar. Условно животные были разделены на две возрастные группы, при этом возраст выбирался при помощи определения соотношения продолжительности жизни крыс и человека с помощью коэффициента 1,7 [9]. У группы молодых животных возраст 3–4 месяца коррелирует с юношеским периодом человека (16-20 лет). У группы старых животных возраст 1,5–2 года соотносится со стариками (65-75 лет). В качестве объекта исследования выбраны трахеобронхиальные лимфоузлы. Крысы получали стандартную диету на основе комбикорма ПК-120-1 со свободным доступом к воде. При этом 25 крыс в течение месяца и в дозе 0,1-0,2 г\кг получали фитосредство, включающие измельченные лекарственные растения (копеечник чайный, бадан, родиол розовая, черника, брусника, смородина черная, шиповник и др.) и компаунд пищевых волокон [10]. Для проведения работы использовались следующие методы:

Гистологический метод – это метод необходимый для исследования клеточного профиля компартментов лимфоузла. В основе метода лежит использование световой микроскопии. Образцы трахеобронхиальных лимфоузлов сначала фиксируют в 10% нейтральном формалине, после чего осуществляют классическую схему проводки и заливки материала в парафин, в конечном счете приготавливают гистологические срезы. Образцы окрашиваются при помощи гематоксилина и эозина, азура и эозина, толуидинового синиги, трихромного красителя по С. Masson. Полученные гистологические срезы подвергаются морфометрическому анализу, который выполняется с помощью морфометрической сетки, устанавливаемой на срез лимфоузла. В ходе анализа определяется удельная площадь компартментов лимфатических узлов. Дополнительно в компартментах лимфоузлов осуществлялся подсчет клеток на стандартной площади 2025 мкм² при увеличении микроскопа в 900 раз.

Термогравиметрический метод – это метод применяется с целью изучения гидратационных характеристик трахеобронхиального лимфоузла. Термогравиметри-

ческий метод позволяет исследовать общую гидратированность лимфатического узла и водные фракции. Данный метод осуществляли с учетом рекомендаций Н.Ф. Фаращука. Лимфоузлы сначала высушиваются при постоянной температуре с фиксацией изменения массы при помощи аналитических весов. На основе известных объема органа и площади его структур производили расчет объема жидкости, приходящейся на определенный компартмент лимфатического узла в соответствии с принципом Кавальери–Акера–Глаголева.

Статистическая обработка полученных данных проводится с помощью программы Excel и StatPlus Pro, AnalystSoft Inc.

Эксперимент на животных проведен в соответствии с принципами биоэтики, правилами лабораторной практики, изложенными на Женевской конференции (1971), и в документах «Об утверждении правил лабораторной практики», «О гуманном обращении с экспериментальными животными» (Минздрав СССР № 775 от 12.08.1977), «Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985), руководство по лабораторным животным [11] и в соответствии с приказом МЗ РФ № 267 от 19.06.2003. Выведение из опыта и болезненные манипуляции на животных выполняли под общим эфирным наркозом. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии» (протокол № 126 от 30.11.2016).

Результаты и обсуждения.

С возрастом в трахеобронхиальных лимфатических узлах отмечается дегидратация и инволюция лимфоидной ткани, связанная с изменением клеточного профиля компартментов лимфоузла [8, 12].

Возраст индуцированная дегидратация проявляется уменьшением общей воды на 8,2% и снижением доли свободной фракции воды. Подобное изменение водного баланса отражает коэффициент гидратации, который поднимается в 2 раза. Дополнительно снижение водного компонента, обусловлено уменьшением площади лимфатических синусов. В свою очередь сокращение площади лимфатических си-

нусов и увеличение доли коркового вещества (при этом физическая площадь также сокращается) приводит к дополнительной компактизации трахеобронхиального лимфоузла, что отражается в подъёме индекса К/М. Соединительнотканная капсула трахеобронхиальных лимфоузлов увеличивается почти в 3 раза. Описанные структурные изменения сопровождаются перестройкой клеточного профиля. Отмечается уменьшение численной плотности blastов лимфоцитов во всех структурно-функциональных зонах на фоне увеличения ретикулярных клеток и появления клеток с признаками деструкции.

Использование фитокомпозиции позволяет увеличить количество общей воды, тем самым способствуя повышению гидратированности трахеобронхиального лимфоузла (табл. 1). На фоне повышения гидратации отмечается возрастание объема межклеточной жидкости в 2,8 раза, что положительно влияет на функции иммунокомпетентных клеток. Такое перераспределение водных фракций позволяет достичь коэффициента гидратации сопоставимого с молодыми животными. На фоне фитостимулированного снижения коэффициента гидратации отмечается повышение плотности трахеобронхиального лимфоузла (табл. 1).

Фитотерапия позволяет сохранить компактный морфотип трахеобронхиального лимфоузла, что отражается в величине индекса К/М, равной $2,39 \pm 0,08$ (без коррекции – $2,86 \pm 0,08$). Использование фитотерапии способствует увеличению площади лимфоидных узелков с герминативным центром (в 2,1 раза), синусной системы (в 1,5 раза) на фоне уменьшения межузелковой части коры (табл. 2). Реактивный ответ лимфоидных узелков связан с усилением клеточной пролиферации, что повышает иммунный ответ по гуморальному типу.

Морфометрическое исследование показало, что использование фитосредства приводит к изменению клеточного профиля в структурно-функциональных зонах трахеобронхиального лимфоузла. Так в

лимфоидных узелках наблюдается увеличение лимфобластов в 1,4 раза, средних лимфоцитов в 1,3 раза, малых лимфоцитов в 1,4 раза. При этом численная плотность макрофагов в лимфоидных узелках у старых животных, получивших фитосбор, не имела статистически значимых отличий в сравнении с лимфоидными узелками старых животных в отсутствии фитостимуляции. В паракортикальной области после приема фитокомпозиции отмечается уменьшение числа ретикулярных клеток в 1,8 раза и макрофагов в 1,4 раза, при этом численная плотность остальных клеток в пределах значений, имеющих место у старых животных без фитокоррекции. Мозговые тяжи в условиях фитостимуляции характеризуются повышением числа плазмочитов в 1,7 раза, малых лимфоцитов в 1,2 раза и снижением числа макрофагов в 1,4 раза, эозинофильных гранулоцитов в 1,8 раза. В субкапсулярном и мозговом лимфатических синусах на фоне БАФ стимуляции отмечается повышение численной плотности макрофагов.

Выводы

Возраст-индуцированные изменения трахеобронхиального лимфоузла проявляются дегидратацией, инволюцией лимфоидной ткани с уменьшением структурно-функциональных зон и пролиферации лимфоидных клеток. Дренажная и иммунная функции трахеобронхиального лимфоузла снижаются при старении.

Прием оригинальной фитокомпозиции положительно влияет на структуру и функцию трахеобронхиального лимфоузла. Фитотерапия способствует повышению общей гидратированности и доли свободной фракции воды, увеличивает размерность компартментов, особенно лимфоидных узелков и синусной системы, повышает клеточную пролиферацию в структуре трахеобронхиального лимфоузла. Все это является важным для обеспечения дренажной и иммунной функции лимфоузла на этапе позднего онтогенеза, когда он претерпел возраст-обусловленные изменения.

Таблица 1. Гидратационные характеристики трахеобронхиального лимфатического узла старых животных до и после использования биологически активного фитосбора (БАФ)

Параметр	До БАФ (n=40)	После БАФ (n=40)
Объем воды, %	58,65±0,62	66,35±0,92*
Масса воды, мг	4,48±1,05	7,76±0,61 [#]
Объем лимфы в синусах, мм ³	2,19±0,32	2,23±0,37*
Объем межклеточной жидкости, мм ³	0,71±0,19	1,98±0,56*
Объем общей воды, мм ³	9,93±1,03	8,55±1,38*
Объем свободной воды, мм ³	2,90±0,36	4,21±1,02*
Объем связанной воды, мм ³	7,03±0,73	4,34±0,64**
Коэффициент гидратации	2,42±0,08	1,03±0,04 ^{##}
Плотность	1,30±0,27	1,71±0,13*

$P > 0,05^*$; $P < 0,001^{\#}$; $P < 0,05^{**}$; $P < 0,01^{##}$;

Таблица 2. Перестройка компартов трахеобронхиального лимфоузла на фоне использования биоактивного фитосбора (БАФ) на поздних этапах онтогенеза

Структура лимфоузла и индексы	Без БАФ (n=20)	После БАФ (n=20)
Капсула	1,45±0,14	9,04±0,48*
Субкапсулярный синус	1,68±0,15	4,50±0,22 ^{##}
Межузелковая часть коры	5,45±0,61	4,28±0,24*
Лимфоидный узелок без герминативного центра (Ф ₁)	2,19±0,12	4,32±0,21 ^{##}
Лимфоидный узелок с герминативным центром (Ф ₂)	4,71±0,29	4,62±0,46 ^{##}
Паракортикальная область	10,54±0,27	12,28±1,11*
Мозговые тяжи	9,87±0,36	16,63±1,62 ^{##}
Мозговой лимфатический синус	2,38±0,34	5,61±0,61**
Корково-мозговое соотношение (индекс К/М)	2,12±0,12	1,43±0,11*

$P > 0,05^*$; $P < 0,05^{**}$; $P < 0,01^{##}$;

Таблица 3. Количественная характеристика клеток на единице площади структурно-функциональных зон трахеобронхиального лимфоузла до и после использования биоактивного фитосбора (БАФ)

Компартмент	Клетки	До БАФ	После БАФ
Лимфоидные узелки	Лимфобласты	5,38±0,23	2,21±0,14 ^{##}
	Средние лимфоциты	9,05±0,28	9,86±0,44 ^{##}
	Малые лимфоциты	13,63±0,30	15,35±0,61 [#]
	Макрофаги	3,35±0,16	2,16±0,15*
Паракортикальная область	Лимфобласты	3,48±0,12	1,83±0,11*
	Средние лимфоциты	6,20±0,16	4,36±0,22*
	Малые лимфоциты	10,35±0,46	6,86±0,14*
	Ретикулярные клетки	1,33±0,09	1,45±0,11 [#]
	Макрофаги	1,83±0,14	1,29±0,11 ^{##}
	Плазмоциты	2,08±0,09	0,76±0,08*
	Эозинофильные гранулоциты	0,28±0,02	0,23±0,03*
Мозговые тяжи	Плазмобласты	1,63±0,09	1,86±0,17*
	Плазмоциты	5,72±0,27	6,39±0,17 [#]
	Малые лимфоциты	6,83±0,23	5,80±0,25 ^{##}
	Средние лимфоциты	5,43±0,16	4,69±0,31*
	Макрофаги	2,33±0,14	1,68±0,11 ^{##}
	Ретикулярные клетки	1,13±0,07	1,36±0,12*
	Эозинофильные гранулоциты	0,25±0,02	0,24±0,03 [#]
Мозговой лимфатический синус	Малые лимфоциты	8,55±0,30	6,20±0,31*
	Макрофаги	2,80±0,14	2,31±0,11 ^{##}
	Ретикулярные клетки	1,30±0,05	1,78±0,11*
	Плазмоциты	1,78±0,09	1,21±0,08*
	Эозинофильные гранулоциты	0,15±0,02	0,18±0,03*

$P > 0,05^*$; $P < 0,001^{\#}$; $P < 0,01^{##}$;

Библиографический список

1. Betterman, K.L. The lymphatic vasculature: development and role in shaping immunity / K.L. Betterman, N.L. Harvey // *Immunol. Rev.*, 2016. – V. 271. – P. 276-292.
2. Girard, J.P. HEVs, lymphatics and homeostatic immune cell trafficking in lymph nodes / J.P. Girard, C. Mousson, R. Forster // *Nat. Rev. Immunol.*, 2012. – V. 12. – P. 762-773.
3. Левин, Ю.М. Варианты Катрэла, Левинасан и новые препараты ЭРЛ / Ю.М. Левин // Материалы III Междун. конгресса «Эндоэкологическая медицина». Республика Кипр, 21-28 октября 2007 г. – М.: ОАО «Щербинская типография», 2007. – С.68–69.
4. Левин, Ю.М. Прорыв в эндоэкологическую медицину. Новый уровень врачебного мышления и эффективной терапии. – М.: ОАО «Щербинская типография», 2006. – 200 с.
5. Открытие свойства влиять на транспорт тканевой жидкости и лимфатический дренаж тканей у некоторых известных лекарственных препаратов / Ю.М. Левин, С.Т. Топорова, Л.П. Свиридкина, Ф.А. Баркинхоева [и др.] // Материалы III Междун. конгресса «Эндоэкологическая медицина». Республика Кипр, 21–28 октября 2007 г. – М.: ОАО «Щербинская типография», 2007. – С. 69.
6. 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.
7. Эндолимфатическая и лимфотропная терапия / Ю.М. Левин, С.У. Джумабаев, В.М. Буянов, И.Я. Шахтмейтер [и др.]. – Ташкент, 1987. – 234 с.
8. Бородин Ю.И. Лимфатическая система и старение // *Фундаментальные исследования*, 2011. – № 5. – С. 11-15.
9. Гелашвили, О.А. Вариант периодизации биологически сходных стадий онтогенеза человека и крысы // *Саратовский научно-медиц. журнал*. – 2008. – Т. 4. – № 22. – С. 125-126.
10. 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.
11. Каркищенко, Н.Н. Лабораторные животные (положение и руководство). – М.: Межакадемическое изд-во «ВПК», 2003. – 138 с.
12. Gorchakova O., Kolmogorov Yu., Gorchakov V., Demchenko G. Interrelation of trace elements and the structural organization of lymph nodes at young and senile age // *Archiv Euro-medica*, 2020. – Vol. 10. – Num. 2. – P. 22-25. <http://dx.doi.org/10.35630/2199-885X/2020/10/2.6>

PHYTOSTIMULATION OF THE TRACHEOBRONCHIAL LYMPH NODE IN THE LATE STAGES OF ONTOGENESIS**K.M. Nikolaichuk¹, Student****V.I. Bystrova¹, Student****M.S. Fedotova¹, Student****E.I. Dzhugashvili¹, Student****A.Y. Filippova¹, Student****I.D. Levchenko¹, Student****O.V. Gorchakova², Candidate of Medical Sciences, Researcher****¹Novosibirsk State University****²Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – branch of ICiG SB RAS (Russia, Novosibirsk)**

Abstract. *In the process of ontogenesis, all body systems undergo age-related changes, especially the lymphatic system. Senile changes in the lymphatic system, including lymph nodes, lead to losses of their effectiveness in providing endoecological protection. In the experiment, the ability of the original herbal remedy to adjust the structural and functional parameters of the tracheobronchial lymph node, taking into account hydration, was investigated. The main active substances are bioflavonoids of plants that have a positive effect on organs and systems. Phytostimulation has a structural-modifying effect, selectively affecting compartments and optimizing the hydration parameters of the tracheobronchial lymph node that has undergone senile changes. The use of phytotherapy increases the efficiency of the lymph node, which gives the right to use the herbal remedy in anti-aging wellness programs.*

Keywords: *lymphatic region, lymph nodes, hydration, phytotherapy, bioflavonoids.*