

О.В. Горчакова, В.Н. Горчаков

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИММУННОГО СОСТОЯНИЯ
ЛИМФАТИЧЕСКОГО УЗЛА ГЕРОНТОВ В УСЛОВИЯХ ФИТОТЕРАПИИ****Новосибирский государственный университет (Новосибирск)
НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН (Новосибирск)**

В эксперименте проведена морфофункциональная оценка иммунного статуса лимфатического узла геронтов. Показано снижение его иммунной функции из-за процессов склерозирования, компактизации и разряжения структуры паракортикальной зоны в условиях редукции лимфопоза. У геронтов усиливается клеточное звено иммуногенеза, судя по увеличению размера паракортеса при сохранности соотношения лимфоидных узелков с герминативным центром и без него. У геронтов прием биоактивного фитосбора усиливает пролиферативные процессы, сопровождающиеся увеличением числа клеток в лимфоидных узелках, стимулирует макрофагальную реакцию и увеличивает число плазмобластов во всех структурно-функциональных зонах лимфатического узла. В условиях фитотерапии происходит формирование иммунного ответа по смешанному типу. Результат имеет практическое значение для использования иммуноориентированной фитотерапии в программах эндоэкологической реабилитации с учетом возрастного фактора.

Ключевые слова: лимфоузел, геронтология, фитотерапия

**MORPHOFUNCTIONAL ESTIMATION OF IMMUNE FUNCTION OF LYMPH NODE
OF OLD AGE IN THE CONDITIONS OF PHYTOTHERAPY**

O.V. Gorchakova, V.N. Gorchakov

**Novosibirsk State University
Institute of clinical and experimental lymphology SB RAMS, Novosibirsk**

The morphofunctional estimation of the immune status of a lymph node of animals of old age is spent in experiment. Data has shown decrease in immune function of the lymph node because of a fibrosis process, of cells depletion of paracortex structure in the conditions of a lymphopoiesis reduction. The ageing strengthens the cellular immunity that is characterized by increase in paracortex size at preservation of a parity of lymphoid nodules with the germinative centre and without the germinative centre. The phytotherapy strengthens proliferative processes accompanied by increase of number of cells in lymphoid nodules, stimulates of macrophage reaction and increases number of plasmablasts in all structurally and functional zones of a lymph node of animals of old age. There is a formation of the immune answer on the mixed type in the conditions of phytotherapy. The result has practical importance for use of the immunefocused phytotherapy in programs of endoecological rehabilitations taking into account the age factor

Key words: lymph node, gerontology, phytotherapy

Старение — сложный процесс, являющийся естественным этапом онтогенетического развития, и проявляется в неравномерности изменений органов и систем организма [2, 9, 11]. Одними из первых изменяются иммунная и лимфатическая системы. При этом требуется тщательное изучение функции органов и систем лиц пожилого и старческого возраста с учетом особенностей их иммунного статуса. Важное место отводится лимфатическим узлам, которые входят в состав одной из важнейших звеньев защитной системы организма — иммунной и участвующих в сложном процессе иммуногенеза [4]. Требуется изучение морфологических эквивалентов иммунной функции лимфатических узлов с учетом возрастного фактора. Морфофункциональный статус лимфатического узла может рассматриваться как индикатор внутренней среды, которая меняется с возрастом. В тоже время исследование лимфатического узла позволит выявить характерные особенности его структуры и иммунного ответа у геронтов, что может быть условием для выбора иммуноориентированной терапии. Постоянно ведется поиск новых

эффективных средств геропротекторов, влияющих на темпы старения. Наибольший интерес вызывает фитотерапия, которая широко применяется в медицине из-за позитивного действия на организм [6]. Но за пределами исследования остается лимфатическая составляющая механизмов действия фитотерапии, при которой лимфатический узел становится основным органом-мишенью. Применение фитотерапии для замедления старения в лимфатической и лимфоидной системах делает настоящее исследование актуальным с позиции современной лимфологии, эндоэкологической медицины и фитолимфонутириологии [5, 7].

В связи с этим **цель исследования** — морфофункциональная оценка иммунного статуса лимфатического узла геронтов в условиях фитотерапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент на животных и выведение их из опыта были проведены в соответствии с принципами биоэтики, правилами лабораторной практики (GLP). Методы соответствуют этическим нормам,

изложенным в Женевской конференции (1971), «Об утверждении правил лабораторной практики» и «О гуманном обращении с экспериментальными животными» (Минздрав СССР № 775 от 12.08.1977), «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и в соответствии с приказом МЗ РФ № 267 от 19.06.2003.

Исследование проводили на 160 белых крысах-самцах Wistar разного возраста (молодые — 3–4 месяца и старые — 12–15 месяцев) с учетом существующего соотношения продолжительности жизни крысы и человека [3]. Животные получали при свободном доступе к воде стандартную диету, которая включала экструдированный комбикорм ПК-120-1. В эксперименте использован биоактивный фитосбор (БАФ), включающий корень и лист бадана, родиолу розовую, копеечник сибирский, лист черники, брусники, смородины, шиповник майский, чабрец, пищевые волокна. Выбор конкретных лекарственных растений основан на принципах фитотерапии [6]. Фитосбор является адаптогенным средством, что определило его применение у животных-геронтов. Фитосбор применяли в течение одного месяца в суточной дозе 0,1–0,2 г/кг у животных разного возраста.

Паховые лимфатические узлы исследовали гистологическим методом. Забранные лимфатические узлы фиксировали в 10% нейтральном формалине. Далее следовала классическая схема проводки и заливки материала в парафин с последующим приготовлением гистологических срезов и окраской их гематоксилином и эозином, азуром и эозином. Морфометрический анализ структурных компонентов лимфатического узла осуществляли с помощью морфометрической сетки [1, 10], которая накладывалась на срез лимфатического узла. Подсчитывали количество узлов или пересечений сетки, приходящихся на весь срез в целом и отдельно на каждый из структурных компонентов с перерасчетом в проценты. При цитоанализе

лимфатических узлов подсчитывали число клеток на стандартной площади 1600 мкм² с их дифференцировкой на бласты, средние и малые лимфоциты, плазмциты, макрофаги и другие [8].

Полученные данные подвергали статистической обработке с определением средней арифметической (М), ошибки средней арифметической ($\pm m$) и достоверности различий при $p < 0,05$ в операционной системе Windows с использованием программы статистического анализа StatPlus Pro 2009, AnalystSoft Inc.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Гистологическое строение лимфатических узлов тесно связано с выполняемыми ими функциями, прежде всего, иммунной функцией. Прежде, чем рассматривать особенности лимфопролиферативных изменений, следует остановиться на морфологических проявлениях иммунного ответа в лимфатических узлах при старении. Лимфатические узлы являются частью лимфатического русла и с возрастом претерпевают структурно-функциональные преобразования из-за развития склеротического процесса. В большей степени это касается тех лимфатических узлов или сегментов их, которые не были подвержены инволюции и сохранили структурно-функциональные зоны, входящие в состав лимфоидной доли. Именно сохранность лимфоидной доли определяет функции лимфатического узла, значимые в определенном возрасте и необходимые для выполнения дренажно-детоксикационной и иммунной функций. Для геронтов характерна неоднородность структуры лимфатического узла. В лимфатических узлах геронтов выявлены процессы фиброзирования, сопровождающиеся утолщением капсулы, развитием соединительной ткани вокруг сосудов, синусов в лимфоидной паренхиме (рис. 1). Наряду с этим отмечена локализация субкапсулярного склероза параллельно краевому синусу в периферической коре, что затрудняет пассаж лимфы в компартменте лимфатического узла.

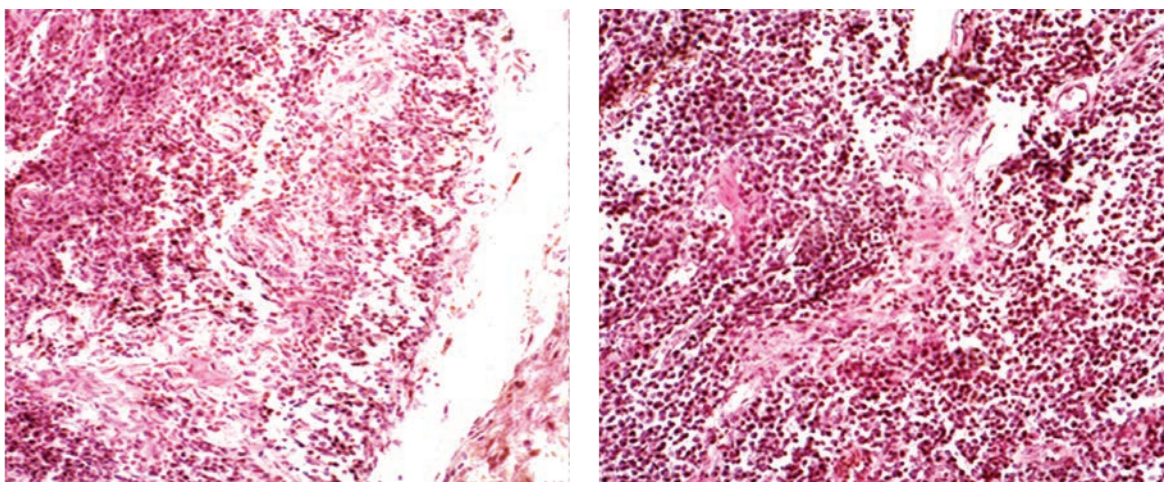


Рис. 1. Участки склерозирования в лимфоидной паренхиме лимфатического узла геронтов. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ок. $\times 7$, об. $\times 10$.

На этом фоне имеет место общая компактизация лимфатического узла. Кортиково-мозговое соотношение мало меняется и составляет в среднем $1,91 \pm 0,25$ (у молодых животных $1,98 \pm 0,23$). В структуре лимфатического узла преобладают структуры коркового вещества. У геронтов наблюдаемое изменение площади структурно-функциональных зон лимфатического узла, ответственных как за клеточный, так и за гуморальный иммунитет. При этом увеличивается в 1,6 раза площадь, занимаемая корковым плато. Увеличение площади коркового плато связано с уменьшением площади лимфоидных узелков, особенно содержащих герминативные центры. Соотношение вторичных и первичных лимфоидных узелков с герминативным центром и без него составляет у геронтов 1,1, когда у молодых

животных он равен 1,4. Уменьшение количества лимфоидных узелков с герминативным центром указывает на снижение пролиферативных процессов в лимфатическом узле с возрастом. Паракорттекс может сохранять компактное расположение лимфоидных клеток по периферии или в виде отдельных полос на фоне разряжения своей структуры. При этом формируется недостаточность клеточного звена иммунитета, судя по занимаемой площади Т-зоны в лимфатическом узле у геронтов. Мозговые синусы лимфатических узлов геронтов выглядели широкими образованиями, пронизывающими всю ткань узла. Отмечено увеличение в 2,3 раза размера мозгового синуса лимфатического узла. Просвет синусов выполнен клеточными элементами. Эти изменения указывают на развитие диспропор-

Таблица 1

Количественная характеристика клеток на единицу площади структурно-функциональных зон лимфатического узла молодых и старых животных

Клетки	Группы животных	
	Молодые (3–4 мес.)	Старые (12–15 мес.)
	1	2
Лимфоидные узелки с герминативным центром		
Лимфобласты	$3,70 \pm 0,24$	$2,97 \pm 0,13$
Средние лимфоциты	$3,0 \pm 0,12$	$5,0 \pm 0,24^*$
Малые лимфоциты	$11,82 \pm 0,24$	$8,13 \pm 0,35^*$
Макрофаги	$2,60 \pm 0,24$	$2,83 \pm 0,30$
Мозговые тяжи		
Плазмобласты	$3,60 \pm 0,12$	$3,67 \pm 0,11$
Зрелые плазмоциты	$3,81 \pm 0,12$	$2,40 \pm 0,41^*$
Малые лимфоциты	$4,60 \pm 0,24$	$5,50 \pm 0,35$
Средние лимфоциты	$3,0 \pm 0,12$	$2,83 \pm 0,30$
Макрофаги	$5,0 \pm 0,13$	$3,67 \pm 0,30^*$
Ретикулярные клетки	$1,23 \pm 0,11$	$1,50 \pm 0,13$
Эозинофильные гранулоциты	$0,67 \pm 0,09$	$1,40 \pm 0,11^*$
Паракорттекс		
Бласты	$5,20 \pm 0,18$	$5,17 \pm 0,30$
Средние лимфоциты	$4,80 \pm 0,29$	$3,12 \pm 0,30^*$
Малые лимфоциты	$12,0 \pm 0,47$	$8,01 \pm 0,30^*$
Ретикулярные клетки	$1,80 \pm 0,24$	$1,67 \pm 0,08$
Плазмоциты	$1,40 \pm 0,12$	$2,67 \pm 0,13^*$
Макрофаги	$5,0 \pm 0,83$	$1,01 \pm 0,30^*$
Эозинофильные гранулоциты	$0,49 \pm 0,06$	$0,50 \pm 0,12$
Мозговой синус		
Малые лимфоциты	$4,0 \pm 0,27$	$7,01 \pm 0,41^*$
Макрофаги	$3,0 \pm 0,13$	$4,33 \pm 0,30^*$
Ретикулярные клетки	$1,80 \pm 0,12$	$2,33 \pm 0,08^*$
Плазмоциты	$3,80 \pm 0,30$	$3,00 \pm 0,13$
Эозинофильные гранулоциты	$0,40 \pm 0,06$	$0,67 \pm 0,12$

Примечание: (здесь и в табл. 2) * – $p_{1-2} < 0,05$.

ции притока в лимфатический узел и оттоком лимфы из него. Расширенные синусы являются структурной предпосылкой для замедления тока лимфы и снижения дренажно-детоксикационной и иммунной функций лимфатического узла.

К возрастным изменениям, которые связаны с преобразованием интранодулярной структуры, можно отнести различия в клеточном составе паховых лимфатических узлов геронтов (табл. 1). Для геронтов характерно снижение числа бластов в лимфоидных узелках при сохранении их числа в мягкотных тяжах и паракортексе; повышение числа средних лимфоцитов в лимфоидных узелках и уменьшения их в паракортексе; снижение числа малых лимфоцитов в лимфоидных узелках и паракортексе с увеличением в мозговом синусе; увеличение числа макрофагов в мягкотных тяжах и паракортексе; уменьшение числа плазмочитов в мягкотных тяжах при неизменном числе плазмобластов (табл. 1). Имеет место снижение бластной трансформации из-за сниженного ответа на антигены, поступающие из региона лимфосбора, при задержке перехода среднего лимфоцита (пролимфоцит) в бласт. У геронтов наблюдается редукция лимфоцитарного пула, что служит указанием на снижение иммуногенеза в лимфатическом узле. В структуре лимфатического узла обнаруживаются широкие периваскулярные зоны, которые лишены клеточных элементов и указывают на ухудшение миграции лимфоцитов из крови в ткань лимфатического узла и обратно. Для геронтов характерна низкая макрофагальная реакция.

Изменение плотности лимфоцитов в структурно-функциональных зонах лимфатического узла напрямую связано с формированием типа иммунного ответа [12]. В условиях старения происходит уменьшение клеточной плотности, что при проведении морфофункциональной оценки лимфатического узла позволило отметить снижение иммунного ответа по клеточному типу.

Фитотерапия оказывает существенное влияние на структуру и цитоархитектонику лимфатического узла в зависимости от возраста животного. Бифлавоноиды растений оказывают влияние на процессы дифференцировки и пролиферации лимфоидных клеток. Прием фитосбора молодыми животными не оказывает существенного влияния на размерность структурно-функциональных зон лимфатического узла. У геронтов прием фитосбора влияет на размерность нескольких структурно-функциональных зон лимфатического узла. Наблюдается уменьшение в 1,76 раза площади коркового плато при увеличении в 1,21 раза площади паракортекса (рис. 2). Изменение площади коркового плато и паракортекса можно связать миграцией лимфоидных клеток внутри лимфатического узла и указывает на активацию клеточного звена иммунитета. Паракортекс является структурно-функциональной зоной лимфатического узла, которой отводится важная роль в Т-клеточном иммунном ответе. В условиях приема фитосбора наблюдается тенденция к увеличению размера лимфоидных узелков (рис. 2). Наблюдается формирование лимфоидных узелков на границе коркового и мозгового веществ в лимфатическом узле. Уменьшается в 1,3 раза размер синусной системы в условиях приема фитосбора у геронтов. Компактный морфотип лимфатического узла сохраняется, так как корково-мозговое соотношение мало изменилось после фитотерапии, как и не исчезли элементы склерозирования в лимфоидной паренхиме вокруг синусов. Характер изменения основных структурно-функциональных зон сопровождается увеличением на 18,82 % общей площади лимфатического узла геронтов.

У старых животных наблюдается изменение цитологии структурно-функциональных зон в условиях фитотерапии в сравнении с показателями у старых животных, не принимавших фитосбор (табл. 2): в лимфоидных узелках статистически значимое увеличение в 1,85 раза лимфобластов,

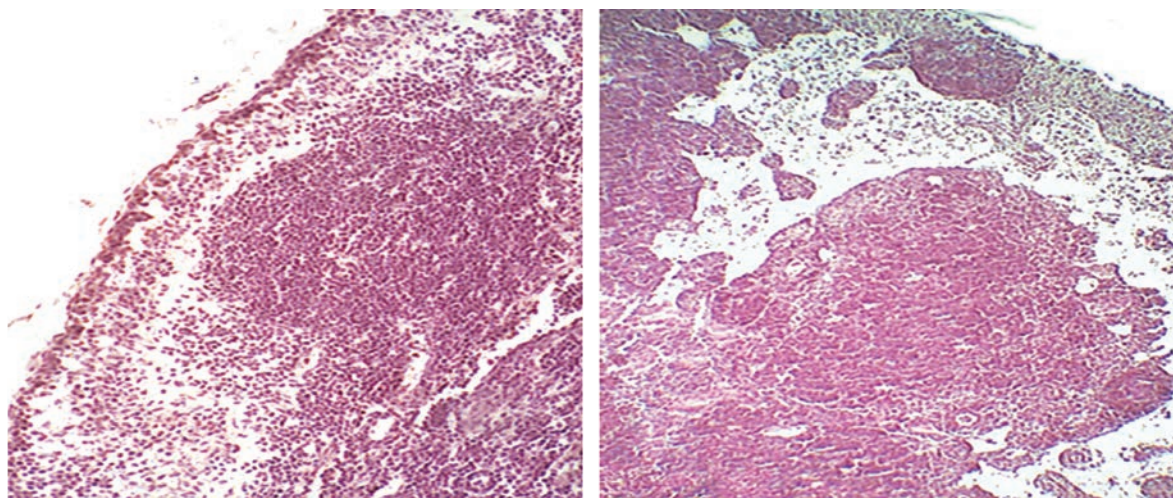


Рис. 2. Увеличенный лимфоидный узелок в корковом плато и гиперплазия паракортекса на фоне расширенной синусной системы лимфатического узла в условиях фитотерапии у геронтов. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ок. $\times 7$, об. $\times 10$.

в 1,21 – 1,47 раза малых и средних лимфоцитов, в 1,94 макрофагов на единицу площади; в паракортексе статистически значимое уменьшение в 1,41 раз лимфобластов, в 1,44 раза средних лимфоцитов, в 1,52 раза эозинофильных гранулоцитов, увеличение в 1,3 ретикулярных клеток, в 1,62 раза макрофагов, в 2,5 раза плазмоцитов на единицу площади; в мягкотных тяжах статистически значимо увеличение в 1,88 зрелых плазмоцитов (рис. 3), в 1,45 раза ретикулярных клеток, уменьшение в 2 раза эозинофильных гранулоцитов на единицу площади; в мозговом синусе статистически значимо уменьшается в 1,37 раза макрофагов на единицу площади. Обращает внимание, что после фитотерапии чаще наблюдаются митозы клеток.

Имеет место прямая зависимость между насыщенностью иммунокомпетентными клетками структурно-функциональных зон лимфатиче-

ского узла и типом иммунного ответа [12]. В результате фитотерапии происходит увеличение плотности лимфоцитов в корковом веществе и плазмоцитов в мягкотных тяжах (рис. 3), что определяет иммунный ответ по гуморальному типу. В тоже время насыщенность лимфоцитами паракортикальной зоны обеспечивает интенсивность ответа по клеточному типу после проведенной фитотерапии. В результате проведения фитотерапии имеет место усиление иммунного ответа по смешанному типу при морфофункциональной оценке иммунологического состояния лимфатического узла геронтов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Морфологическая картина пахового лимфатического узла у геронтов отражает снижение его иммунной функции из-за процессов склерозиро-

Таблица 2
Количественная характеристика клеток на единицу площади структурно-функциональных зон лимфатического узла геронтов в условиях приема биоактивного фитосбора (БАФ)

Клетки	Геронты	
	Без коррекции	БАФ
	1	2
Лимфоидные узелки с герминативным центром		
Лимфобласты	2,97 ± 0,13	5,50 ± 0,25*
Средние лимфоциты	5,0 ± 0,24	7,33 ± 0,71*
Малые лимфоциты	8,13 ± 0,35	14,33 ± 0,47*
Макрофаги	2,83 ± 0,30	5,50 ± 0,24*
Мозговые тяжи		
Плазмобласты	3,67 ± 0,11	3,63 ± 0,12
Зрелые плазмоциты	2,40 ± 0,41	4,50 ± 0,35*
Малые лимфоциты	5,50 ± 0,35	6,0 ± 0,35
Средние лимфоциты	2,83 ± 0,30	2,17 ± 0,36
Макрофаги	3,67 ± 0,30	4,33 ± 0,24
Ретикулярные клетки	1,50 ± 0,13	2,17 ± 0,13*
Эозинофильные гранулоциты	1,40 ± 0,11	0,33 ± 0,07*
Паракортекс		
Лимфобласты	5,17 ± 0,30	3,67 ± 0,09*
Средние лимфоциты	3,12 ± 0,30*	2,17 ± 0,13*
Малые лимфоциты	8,01 ± 0,30*	6,00 ± 0,35*
Ретикулярные клетки	1,67 ± 0,08	2,17 ± 0,12
Макрофаги	2,67 ± 0,13*	4,33 ± 0,24*
Плазмоциты	1,01 ± 0,30*	2,50 ± 0,35*
Эозинофильные гранулоциты	0,50 ± 0,12	0,33 ± 0,09
Мозговой синус		
Малые лимфоциты	7,01 ± 0,41	6,50 ± 0,30
Макрофаги	4,33 ± 0,30	3,17 ± 0,24*
Ретикулярные клетки	2,33 ± 0,08	2,00 ± 0,24
Плазмоциты	3,00 ± 0,13	3,17 ± 0,12
Эозинофильные гранулоциты	0,67 ± 0,12	0,50 ± 0,09

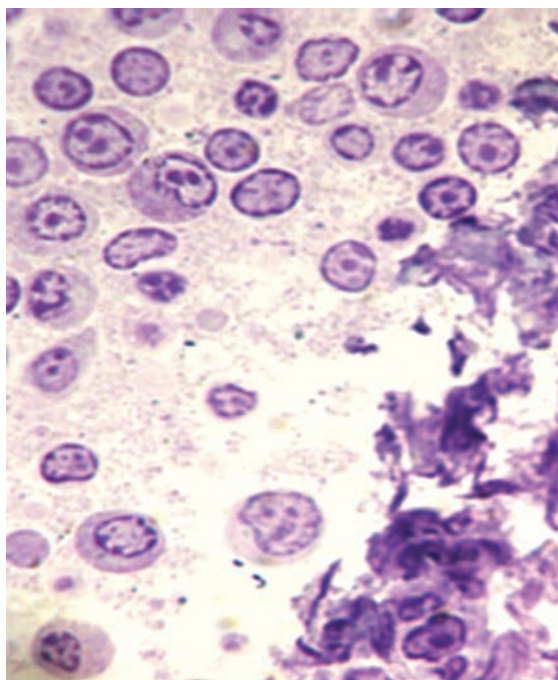


Рис. 3. Плазмочитарная реакция в лимфатическом узле геронтов. Фитотерапия. Окраска толуидиновым синим. Увеличение ок. $\times 7$, об. $\times 40$.

вания, компактизации и разряжения структуры паракортикальной зоны в условиях снижения процессов лимфопоэза. Лимфатический узел испытывает состояния функциональной напряженности при наличии морфологических эквивалентов компенсации. При приеме фитосбора у геронтов формируется смешанный тип иммунного ответа при усилении клеточного звена иммуногенеза, исходя из особенностей лимфопролиферативных изменений на фоне увеличения размера паракортекса и сохранности соотношения лимфоидных узелков с герминативным центром и без него. Полученные результаты имеют практическое значение для использования иммуноориентированной фитотерапии в программах эндозкологической реабилитации и антистарения.

Сведения об авторах

Горчакова Ольга Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии лимфатической системы Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, кандидат медицинских наук (630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2; e-mail: gorchak@soramn.ru)

Горчаков Владимир Николаевич – заведующий лабораторией функциональной морфологии лимфатической системы Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор кафедры фундаментальной медицины Новосибирского государственного университета (630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2; тел. (383) 335-95-31; e-mail: gorchak@soramn.ru)

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. — М.: Медицина, 1990. — 384 с.
2. Альтман Д.Ш., Теплова С.Н., Кочеткова Н.Г., Солодянкина М.Е. и др. Темпы старения и показатели иммунного статуса у участников современных войн // Альманах Геронтология и гериатрия. — 2003. — Вып. 2. — С. 195–196.
3. Аруин Л.И. Структурные особенности компенсаторно-приспособительных процессов // Общая патология человека. — М., 1990. — С. 233–290.
4. Белянин В.А., Цыплаков Д.Э. Диагностика реактивных гиперплазий лимфатических узлов. — СПб.; Казань, 1999. — 328 с.
5. Горчаков В.Н., Саранчина Э.Б., Анохина Е.Д. Фитолимфонутирициология // Прак. фитотерапия. — 2002. — № 2. — С. 6-9.
6. Корсун В.Ф., Кубанова А.А., Соколов С.Я. Фитотерапия экземы. — Мн.: Навука і Тэхніка, 1995. — 276 с.
7. Левин Ю.М. Прорыв в эндозкологическую медицину. Новый уровень врачебного мышления и эффективной терапии. — М.: ОАО Щербинская типография, 2006. — 200 с.
8. Танасийчук И.С. Цитоморфологическая характеристика клеточного состава лимфатических узлов в норме // Цитология и генетика. — 2004. — Т. 38, № 6. — С. 60–66.
9. Топорова С.Г. Особенности системы око-локлеточного гуморального транспорта при старении // Альманах Геронтология и гериатрия. — 2003. — Вып. 2. — С. 90–94.
10. Cottier H., Turk J., Sobin L. Предложения по стандартизации описания гистологии лимфатического узла человека в связи с иммунологической функцией // Бюл. ВОЗ, 1973. — С. 372–377.
11. Dencla W.D. Interactions between age and neuroendocrine and immune system // Exp. Pathol. — 1979. — Vol. 17. — P. 538–545.
12. Isaacson P.G. Normal structure and function of lymph nodes // In: Oxford Textbook of Pathology (ed. J.O'D. McGee, P.G. Isaacson, N.A. Wright). — Oxf. Univ. Press, 1992. — P. 1745–1756.