

МОРФОЛОГИЯ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ (ВОЗРАСТНЫЕ И ЦИРКАННУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ)

¹Марков И.И., ²Краюшкин А.А., ²Краюшкина Н.Г., ²Яковлев А.Т.,
²Загороднева Е.А., ²Власова Е.В., ²Ковалева Н.И.

¹Частное учреждение образовательная организация высшего образования
«Медицинский университет «Реавиз», Самара

²ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Волгоград

Резюме. В ходе экспериментально-морфологического исследования были получены комплексные количественные данные, отражающие различные уровни структурной организации нормальных лимфатических узлов кролика с учетом их регионарной специфики, возраста и пола, времени суток, забора материала, влияния сезонных факторов. В брыжеечных лимфоузлах (БЛУ) и паховых лимфоузлах (ПЛУ) кроликов в период от 0 до 5 месяцев изменения толщины капсулы носят недостоверный характер. Относительная площадь трабекул в них увеличивается, а относительная общая площадь синусов снижается. Ретикулоархитектоника стромы узлов к 3 месяцам усложняется. Лимфоидные узелки в ЛУ новорожденных кроликов отсутствуют, с незначительным увеличением их числа к 5 месяцам в БЛУ в осенне-зимний период, а в группе ПЛУ – в весенне-летний период. Независимо от локализации узлов и возраста животных в них присутствует постоянство отношения длины периметра центрального среза к числу лимфоидных узелков. От 0–5 месяцев в БЛУ относительная площадь коркового плато и мякотных тяжей увеличиваются, а в ПЛУ – уменьшается; ширина мякотных тяжей – увеличивается, а их относительная площадь уменьшается в ЛУ обеих локализаций. На клеточном уровне в лимфоидных узелках к 5 месяцам жизни кроликов отмечается увеличение содержания малых лимфоцитов, снижение процента бластов и больших лимфоцитов и увеличение процента ретикулярных клеток и макрофагов как БЛУ, так и в ПЛУ. В диффузной лимфатической ткани коркового вещества ЛУ происходит уменьшение бластов и больших лимфоцитов и увеличивается количество макрофагов. В мякотных тяжах с возрастом снижается процент ретикулярных клеток, больших лимфоцитов и бластов и увеличивается число малых лимфоцитов, плазматических клеток и макрофагов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

Ключевые слова: паховые лимфатические узлы, брыжеечные лимфатические узлы.

Для цитирования: Марков И.И., Краюшкин А.А., Краюшкина Н.Г., Яковлев А.Т., Загороднева Е.А., Власова Е.В., Ковалева Н.И. Морфология лимфатических узлов в эксперименте (возрастные и цирканнуальные аспекты) // Вестник медицинского института «Реавиз». – 2020. – № 3. – С. 38–43.



MORPHOLOGY OF LYMPH NODES IN THE EXPERIMENT (AGE-RELATED AND CIRCANNUAL ASPECTS)

¹Markov I.I., ²Krayushkin A.A., ²Krayushkina N.G., ²Yakovlev A.T.,
²Zagorodneva E.A., ²Vlasova E.V., ²Kovaleva N.I.

¹Private Institution of Higher Education 'Medical University 'Reaviz,' Samara

²Federal State Budgetary Institution of Higher Education 'Volograd State Medical University,'
Ministry of Health of the Russian Federation, Volgograd

Abstract. In this experimental morphological study, we have obtained complex quantitative data reflecting different levels of the structural organization of normal lymph nodes in rabbits, with the consideration of their regional specificity, age, gender, time of day, specimen collection, and seasonal factors. We found that in mesenteric lymph nodes (MLNs) and inguinal lymph nodes (ILNs) of rabbits aged from 0 to 5 months, changes in the thickness of the capsule were insignificant. The relative area of the trabeculae in them increases, while the relative total area of the sinuses decreases. The reticuloarchitectonics of the node stroma becomes more complex by 3 months. There are no lymphoid nodules in the LNs of newborn rabbits; their number slightly increase by 5 months: in the autumn/winter season in MLNs and in the spring/summer season in ILNs. Regardless of LN locations and animal age, the ratio perimeter of the central section: number of lymphoid nodules was constant. From month 0 to month 5, the relative area of cortical plateau and Billroth's strands increases in MLNs and decreases in ILNs; the width of Billroth's strands increase in both MLNs and ILNs, while their relative area decreases in LNs of both locations. At the cellular level, we observed an increase in the number of small lymphocytes in the lymphoid nodules by month 5, a decrease in the proportion of blasts and large lymphocytes, an increase in the percentage of reticular cells and macrophages in both MLNs and ILNs. In the diffuse lymphatic tissue of the cortical substance of LNs, there was a decrease in the number of blasts and large lymphocytes and an increase in the number of macrophages. In the Billroth's strands, the percentage of reticular cells, large lymphocytes, and blasts decreases with age, while the number of small lymphocytes, plasma cells, and macrophages increases.

Competing interests. The authors declare no competing interests.

Funding. The authors received no external funding for this work.

Key words: inguinal lymph nodes, mesenteric lymph nodes.

To cite: Markov I.I., Krayushkin A.A., Krayushkina N.G., Yakovlev A.T., Zagorodneva E.A., Vlasova E.V., Kovaleva N.I. Morphology of lymph nodes in the experiment (age-related and circannual aspects) // Bulletin of Medical University Reaviz. – 2020. – № 3. – P. 38–43.

Введение

Полученные данные о сезонной динамике клеточного состава лимфатических узлов (ЛУ) обеих локализаций свидетельствуют о повышении их лимфоцитопоэтической функции в весенне-летний период.

По-видимому, в паховых лимфатических узлах (ПЛУ) именно это сказывается на увеличении их массы и размеров весной и летом.

Брыжеечные лимфатические узлы БЛУ имеют непосредственное отношение к кишке и, следовательно, к факторам внешней среды, в то время как ПЛУ находятся в

более опосредованном отношении к последним.

Для БЛУ с их непосредственным отношением к факторам внешней среды, по-видимому, решающим в увеличении массы и размеров осенью и зимой является, судя по соотношению клеток, барьерно-фильтрационная и иммуноцитопотическая деятельность, которая стимулируется преимущественно в осенне-зимний период.

Цель исследования: получение новых данных с применением количественных методов исследования о структурной органи-

зации нормальных лимфатических узлов кролика на различных уровнях организации с учетом их регионарных и возрастных особенностей, соотношения между некоторыми этими уровнями организации, определения особенности морфологии лимфатических узлов по сезонам года.

Материалы и методы исследования

Материалом послужили висцеральные БЛУ и соматические ПЛУ лимфатические узлы 160 клинически здоровых кроликов-самцов породы шиншилла четырех возрастных групп, отражающих основные этапы постнатального онтогенеза от периода новорожденности до половой зрелости новорожденных, юных (1 месяц, период окончания молочного питания), пубертатных (3 месяца), зрелых (5 месяцев). Каждая возрастная группа животных (по 40 кроликов) исследована по сезонам. В одну возрастную сезонную группу входило 10 кроликов.

Экспериментальное исследование проводилось в соответствии с принципами биоэтики, правилами лабораторной диагностики (GLP), этическими нормами, изложенными в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и в соответствии с приказом МЗ РФ № 267 от 16.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики» и МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.

У кроликов определяли массу, температуру на кожных участках и в прямой кишке, показатели крови (общее число эритроцитов и лейкоцитов, гемоглобин, СОЭ, лейкоцитарная формула), регистрировали электрокардиограмму.

Во время препарирования на уровне органа давали качественную характеристику ЛУ, вели их подсчет, определяли массу и размеры.

Для фиксации ЛУ использовали 10 %-й и 20 %-й водные растворы формалина. На уровне ворот изготавливали стандартные серийные срезы, окрашивали гематоксилин-эозином, азур-2-эозином, по Футу, по

Ван Гизону, по Вейгерту, по Фельгену. Давали описательную характеристику структурным компонентам ЛУ.

Давалась качественная характеристика структурам изучаемых органов, проводился количественный морфометрический анализ, включающий стереометрию, количественную характеристику на светооптическом уровне (денситометрия, густота расположения клеточных элементов, клеточный состав). Для морфометрического исследования применялась программа морфометрии «Photo M» (Chernigovsky Loffe Phys Tech inst, версия 1.2.12.2000), а также использовали имидж-анализ.

На клеточном уровне во всех структурных компонентах ЛУ с использованием сетки равномерного шага определяли клеточный состав, который выражали в процентах. При помощи сетки случайного шага определяли число митозов (индекс выражали в промилле) и плотность клеток на единицу площади с последующим пересчетом на единицу объема – 1 мм³.

Результаты и обсуждение

Тканевый уровень. В БЛУ изменения толщины капсулы от $12,0 \pm 2,4$ мкм у новорожденных до $14,1 \pm 1,0$ мкм в 5 месяцев недостоверны; относительная площадь капсулы уменьшается с 9,7 до 1,7 % от периода новорожденности до 5 месяцев; относительная площадь трабекул от 1 до 5 месяцев увеличивается с 0,9 до 3,5 %; относительная общая площадь синусов возрастает от новорожденности до 5 месяцев от 31,7 до 40,1 %.

В ПЛУ изменения толщины капсулы от $11,4 \pm 3,2$ мкм у новорожденных до $13,8 \pm 4,8$ мкм в 5 месяцев недостоверны; относительная площадь капсулы уменьшается от новорожденности до 5 месяцев с 8,0 до 3,4 %; относительная площадь трабекул увеличивается от 1 до 5 месяцев с 1,4 до 3,4 %; относительная общая площадь синусов снижается от периода новорожденности до 5 месяцев с 31,3 до 24,2 %. Характеристика ретикулярной стромы показала,

что если в узлах новорожденных кроликов отмечаются только два принципиально различных типа расположения ретикулярных волокон (упорядоченный в корковом веществе с направлением оси перпендикулярно капсуле и ячеистый в мозговом веществе), то к 3 месяцам ретикулоархитектоника усложняется. Появляется густая сеть на месте мантии лимфоидных узелков, а в области светлых центров ретикулярные волокна имеют вид отдельных штрихов [1, 3, 4, 5].

Лимфоидные узелки у новорожденных кроликов в исследованных ЛУ отсутствуют. В БЛУ от 1 до 5 месяцев их число без светлых центров не изменяется ($20,9 \pm 4,2$ в 1 месяц и $19,1 \pm 4,4$ в 5 месяцев), а их число со светлыми центрами увеличивается с $13,4 \pm 6,6$ до $36,7 \pm 12,0$. В ПЛУ количество лимфоидных узелков без светлых центров в 1 месяц составляет $14,3 \pm 2,0$, в 5 месяцев – $14,5 \pm 3,4$ (в 1 месяц со светлыми центрами они отсутствуют). В БЛУ относительная общая площадь лимфоидных узелков в 1, 3 и 5 месяцев равна соответственно 13,5; 20,3; 16,5 %, ПЛУ – 10,1; 13,6; 12,6 %. Их относительная площадь в БЛУ преобладает в осенне-зимний период (у месячных кроликов в весенне-летний период – 9,2 %, в осенне-зимний – 13,6 %, в 3 месяца – 21,2 и 20,7 % соответственно, в 5 месяцев 14,9 и 17,1 % соответственно), а в ПЛУ – в весенне-летний период (у месячных кроликов в весенне-летний период – 11,9 %, в осенне-зимний – 9,5 %, в 3 месяца – 16,7 и 9,8 % соответственно, в 5 месяцев – 13,8 и 10,6 % соответственно).

Отношение длины окружности центрального среза к числу лимфоидных узелков в срезе по моде составило 0,46 мм. Вариационная кривая этих величин имела островершинный характер с достоверным коэффициентом эксцесса. Поскольку мода находилась одновременно для узлов обеих локализаций и всех возрастных групп (средние арифметические их отличаются недостоверно), показатель эксцесса ($E_x = 2,9$ при $t_{Ex} = 4,6$) указывает на накопление частот вблизи моды, то есть на по-

стоянство отношения длины периметра центрального среза к числу лимфоидных узелков независимо от локализации узлов и возраста животных.

Относительная площадь коркового плато в БЛУ в 1 месяц составляет 7,7 %, в 5 месяцев – 11,3 %; внутренняя часть коркового вещества уменьшается в этом возрастном интервале с 22,2 % до 9,5 %; ширина мякотных тяжей у новорожденных – $22,4 \pm 1,4$ мкм, в 5 месяцев – $49,9 \pm 3,2$ мкм; относительная площадь мякотных тяжей у новорожденных 16,4 %, в 5 месяцев – 17,4 %. В ПЛУ относительная площадь коркового плато в 1 месяц равна 22,2 %, а к 5 месяцам уменьшается до 9,5 %; внутренняя часть коркового вещества составляет в 1 месяц 30,7 %, в 5 месяцев – 32,7 %; ширина мякотных тяжей в ПЛУ новорожденных равна в среднем $21,2 \pm 2,20$ мкм, в 5 месяцев – $38,5 \pm 3,6$ мкм; относительная площадь мякотных тяжей у новорожденных – 17,4 %, к 5 месяцам уменьшается до 9,7 %.

Поскольку лимфоидные узелки и мякотные тяжи ЛУ имеют отношение к гуморальному звену иммунных реакций, а паракортикальная зона – к клеточному (Сапин М. Р. с соавт., 1978), то на основании приведенных нами морфометрических данных об элементах лимфатической ткани БЛУ и ПЛУ кролика, можно предполагать, что БЛУ с их развитыми лимфоидными узелками и мякотными тяжами, как В-зависимыми зонами в иммунных реакциях нормальных кроликов, в большей мере имеют отношение к гуморальному звену, а ПЛУ с их выраженной внутренней частью коркового вещества, как Т-зависимой структурой, – к клеточному [1, 2, 3, 5, 6, 7].

Клеточный уровень. В ЛУ обеих локализаций по мере увеличения возраста в мантии лимфоидных узелков отмечается увеличение содержания малых лимфоцитов: в БЛУ – с 37,7 % в 1 месяц до 49,0 % в 3 месяца и до 54,7 % в 5 месяцев; в ПЛУ содержание малых лимфоцитов в них увеличивается с 44,4 до 61,0 и до 53,1 % соответственно. В светлых центрах происходит

снижение процента бластов и больших лимфоцитов и увеличение процента ретикулярных клеток и макрофагов.

Так, в БЛУ в 1 месяц бласты и большие лимфоциты составляют 30,0 %, в 3 месяца – 21,8 %, в 5 месяцев – 21,2 %; в ПЛУ в 3 месяца – 28,0 %, в 5 месяцев – 24,0 %. Ретикулярные клетки в светлых центрах БЛУ составляют в 1 месяц 11,4 %, в 3 месяца – 14,0 %, в 5 месяцев – 14,7 %; в ПЛУ в 3 месяца – 12,6 %, в 5 месяцев – 13,6 %. Макрофагов в светлых центрах БЛУ содержится в 1 месяц – 1,8 %, в 3 месяца – 2,8 %, в 5 месяцев – 2,2 %; в ПЛУ в 3 месяца – 0,9 %, в 5 месяцев – 1,2 %. В диффузной лимфатической ткани коркового вещества ЛУ происходит уменьшение содержания бластов и больших лимфоцитов, увеличение количества макрофагов. В мякотных тяжах с возрастом снижается процент ретикулярных клеток, больших лимфоцитов и бластов и увеличивается число малых лимфоцитов, плазматических клеток и макрофагов [1, 2, 3, 5].

Митотическая активность с возрастом снижается в ЛУ обеих локализаций. В корковом плато БЛУ митотический индекс (в промилле) у новорожденных $11,2 \pm 1,2$, в 1 месяц – $11,2 \pm 1,1$, в 3 месяца – $7,4 \pm 0,8$, в 5 месяцев – $5,8 \pm 0,4$; в корковом плато ПЛУ он составляет у новорожденных $15,0 \pm 1,8$, в 1 месяц – $10,0 \pm 0,9$, в 3 месяца – $5,0 \pm 0,6$, в 5 месяцев – $4,4 \pm 0,3$.

Заключение

Поскольку содержание бластных форм и митозов свидетельствует о состоянии лимфоцитопозитической функции, увеличение числа плазматических клеток говорит об усилении функции иммуноцитопозита, а содержание макрофагов – об интенсивности барьерно-фильтрационной деятельности узлов,

то на основании анализа возрастной динамики клеточного состава структур брыжечных и паховых узлов кролика можно сделать следующие выводы.

Динамика бластных форм, больших лимфоцитов и митозов говорит о том, что в интервале новорожденность – 5 месяцев происходит ослабление интенсивности лимфоцитопозита в ЛУ кролика, которое больше выражено в БЛУ, чем в ПЛУ. Усиление барьерно-фильтрационной и иммуноцитопозитической функций ЛУ по мере увеличения возраста кроликов более выражено в БЛУ.

Сезонные изменения клеточного состава также более выражены в БЛУ, они проявляются однотипно для всех структур в увеличении числа бластов, больших лимфоцитов и делящихся клеток в весенне-летний период и тенденции к увеличению плазматических клеток и макрофагов осенью и зимой. В светлых центрах БЛУ кроликов 5 месяцев бласты и большие лимфоциты составляют 21,5 % летом и 15,4 % зимой, митотический индекс летом равен 24,4 ‰, зимой – 14,9 ‰.

Годовая динамика соотношения клеток ПЛУ менее выражена, чем в БЛУ, и проявляется в тенденции к увеличению процента бластов, больших лимфоцитов и делящихся клеток в весенне-летний период.

Так, в светлых центрах лимфоидных узелков ПЛУ пятимесячных кроликов бласты и большие лимфоциты летом составляют 27,1 %, зимой – 25,2 %, митотический индекс летом равен 10,9 ‰, зимой – 10,6 ‰. Более выраженная реакция клеточного состава БЛУ по сравнению с ПЛУ на смену времен года может быть объяснена с точки зрения положения этих органов в организме и отношения к ним других органов.

Литература / References

- 1 Krayushkin AI, Perepelkin AI, Sivik VV, Krayushkina NG, Kinash AA, Speranskij LD. Metodika kolichestvennogo rentgenoanatomicheskogo issledovaniya limfaticeskikh uzlov sredosteniya. Volgogradskij nauchno-medicinskij zhurnal. 2014;1:19–22.
- 2 Krayushkin AI, Perepelkin AI, Aleksandrova LI, Yakovlev AT, Zagorodneva EA, Krayushkina NG. Vozrastnaya, regionamaya i cirkannual'naya izmenchivost' fotometricheskoj harakteristiki limfoidnyh uzelkov visceral'nyh i

somaticeskikh limfaticeskikh uzlov krolika. Materialy Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoj 120-letnej godovshchine so dnya rozhdeniya professora B.M. Sokolova. Ryazan. 2016. S. 98-99.

- 3 Krayushkin AI, Perepelkin AI, Zagorodneva EA, Krayushkina NG. Citoarhitektonika central'nogo bryzhechnogo limfaticeskogo uzla krolika na nekotoryh etapah pre- i rannego postnatal'nogo ontogeneza. Materialy nauchno-prakticheskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem «Uchitelya i ucheniki: preemstvennost' pokolenij», posvyashchennoj 250-letiyu so dnya rozhdeniya professora E.O. Izd-vo Pervogo MGIMU im. I.M. Sechenova. 2016. S.151-152.
- 4 Krayushkin AI, Perepelkin AI, Yakovlev AT, Korobkeev AA, Aleksandrova LI, Zagorodneva EA, Krayushkina NG. Teoriya haosa i immunomorfologiya (v poryadke diskussii). Volgogradskij nauchno-medicinskij zhurnal. 2017;2:21–26.
- 5 Yakovlev AT, Aleksandrova LI, Zagorodneva EA, Krayushkina NG. Limfaticeskij uzel kak morfologicheskij «indikator» elektromagnitnyh izluchenij. Volgogradskij nauchno-medicinskij zhurnal. 2017;3:24–27.
- 6 Krayushkin AI, Perepelkin AI, Sivik VV, Zagorodneva EA, Krayushkina NG, Kinash AA. Zakonomernosti morfologii visceral'nyh limfaticeskikh uzlov, primimayushchih limfu ot razlichnyh organov i regionov tela. Vestnik VolgGMU. 2018;1(65)26–28.
- 7 Krayushkin AI, Perepelkin AI, Yakovlev AT, Zagorodneva EA, Krayushkina NG. Vozrastnaya dinamika cirkannual'noj flyuktuacii aktivnosti sukcinatdegidrogenazy v somaticeskikh i visceral'nyh limfaticeskikh uzlah. Volgogradskij nauchno-medicinskij zhurnal. 2018;1:36–39.

Авторская справка

**Марков Игорь
Иванович**

доктор медицинских наук, профессор, советник ректора, Медицинский университет «Реавиз», Самара, Россия
e-mail: morpholetter@yandex.ru

**Краюшкин Александр
Александрович**

студент 5 курса стоматологического факультета, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия
e-mail: krayushkin_ai@mail.ru

**Краюшкина Наталья
Геннадьевна**

кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия
e-mail: natalyk75@bk.ru

**Яковлев Анатолий
Трофимович**

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия
e-mail: yakov1609@yandex.ru

**Загороднева Елена
Александровна**

кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия
e-mail: z-e-alex@mail.ru

**Власова Екатерина
Владимировна**

аспирант кафедры анатомии человека, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия
e-mail: ekaterina-v@mail.ru

**Ковалева Наталья
Ивановна**

кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии человека, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия
e-mail: nika.kovaleva68@yandex.ru

Статья поступила 05.05.2020
Одобрена после рецензирования 20.05.2020
Принята в печать 08.06.2020

Received May, 5th 2020
Approved after reviewing May, 20th 2020
Accepted for publication June 8th 2020