

**МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ, НАУКИ И  
ИННОВАЦИЙ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН  
БУХАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ  
ИМЕНИ АБУ АЛИ ИБН СИНО**

**"УТВЕРЖДАЮ"**

**Министерство здравоохранения  
Председатель Научно-технического  
совета \_\_\_\_\_ Ш.К. Атаджанов  
" \_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 2026 у.**

**ШАРИПОВА ЭЛЬВИНА МИДАТОВНА**

**ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ  
ИЗМЕНЕНИЙ ПОДМЫШЕЧНЫХ И ШЕЙНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ  
УЗЛОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ФИБРОЗЕ ЛЕГКИХ**

**(Монография)**

**Бухара – 2026**

**МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ, НАУКИ И  
ИННОВАЦИЙ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН  
БУХАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ  
ИМЕНИ АБУ АЛИ ИБН СИНО**

**ШАРИПОВА ЭЛЬВИНА МИДАТОВНА**

**ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ  
ИЗМЕНЕНИЙ ПОДМЫШЕЧНЫХ И ШЕЙНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ  
УЗЛОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ФИБРОЗЕ ЛЕГКИХ**

**Монография**



**Бухара - 2026**

**УДК: 616.24-(616.24-004) 616.42-(611.428)**

**Монография предназначена для врачей общей практики, пульмонологов и нефрологов, а также для магистров, ординаторов и студентов высших медицинских учебных заведений.**

**Monografiya umumiy amaliyot shifokori, pulmonolog va nefrologlar, shuningdek, tibbiyot oliy ta'lim muassasalari magistrarlari, klinik ordinatorlar va talabalari uchun mo'ljallangan.**

**Автор:** **Шарипова Эльвина Мидатовна** – ассистент кафедры Клинической фармакологии Бухарского государственного медицинского института, доктор философии (PhD) по медицинским наукам.

**Рецензенты:** **Бахронов Журат Журакулович** – Зав. Кафедрой Гистологии, цитологии и эмбриологии Бухарского государственного медицинского института, DSc, доцент

**Орипов Фирдавс Суратович** – Зав. Кафедрой Гистологии, цитологии и эмбриологии Самаркандского государственного медицинского университета, д.м.н., профессор

Монография была одобрена Научным советом Бухарского государственного медицинского института, протокол № \_\_\_ от “\_\_\_” \_\_\_\_\_ 2026 у.

**Бухара – 2026**

## **Annotatsiya**

Ushbu monografiya eksperimental o'pka fibrozi natijasida rivojlanayotgan mintaqaviy limfa tugunlaridagi morfologik o'zgarishlarni o'rganadi. O'pka fibrozini modellashtirish laboratoriya kalamushlaridan foydalangan holda o'tkazilgan tadqiqotda mintaqaviy limfa tugunlari to'qimasidagi strukturaviy o'zgarishlarning morfologik va morfometrik bahosi o'tkazildi. Olingan natijalar o'pka fibrozida limfa tugunlari shikastlanishining patogenezini tushunish uchun muhimdir. Monografiya patologoanatomlar, pulmonologlar, tibbiyot talabalari va mutaxassislari uchun mo'ljallangan.

## **Аннотация**

Данная монография посвящена изучению морфологических изменений в регионарных лимфатических узлах, развивающихся вследствие экспериментального фиброза легких. В исследовании на лабораторных крысах с моделированием фиброза легких проведена морфологическая и морфометрическая оценка структурной перестройки ткани регионарных лимфатических узлов. Полученные результаты имеют важное значение для понимания патогенеза поражения лимфатических узлов в условиях фиброза легких. Монография предназначена для патоморфологов, пульмонологов, а также студентов и специалистов медицинских вузов.

## **Annotation**

This monograph examines morphological changes in regional lymph nodes developing as a result of experimental pulmonary fibrosis. A study using laboratory rats modeling pulmonary fibrosis conducted a morphological and morphometric assessment of the structural changes in regional lymph node tissue. The results obtained are important for understanding the pathogenesis of lymph node damage in pulmonary fibrosis. The monograph is intended for pathologists, pulmonologists, and medical students and specialists.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Введение.....</b>	<b>5</b>
<b>Анализ литературы по морфофункциональным свойствам клеточных структур лимфатических узлов при экспериментальном фиброзе легких.....</b>	<b>15</b>
Морфофункциональные особенности регионарных лимфатических узлов в норме.....	15
Использование различных методов диагностики и лечения при фиброзе лёгких.....	27
Взаимосвязь между COVID-19 и фиброзом лёгких.....	35
<b>Материал и методы исследования.....</b>	<b>41</b>
Дизайн и описание материала проведенного исследования.....	41
Методика окраски гематоксилин-эозином.....	46
Методы морфометрического исследования.....	49
Методы иммуногистохимического исследования.....	
Методы статистического анализа.....	49
<b>Результаты собственных исследований морфологии регионарных лимфатических узлов в норме и их изменения при фиброзе лёгких у крыс .....</b>	<b>51</b>
Морфологическая и морфометрическая характеристика подмышечных лимфатических узлов крыс контрольной группы в возрастном аспекте.....	51
Морфологическая и морфометрическая характеристика шейных лимфатических узлов крыс контрольной группы в возрастном аспекте.....	55
Морфологическая и морфометрическая характеристика подмышечных лимфатических узлов крыс при экспериментальном фиброзе легких .....	59
Морфологическая и морфометрическая характеристика шейных лимфатических узлов крыс при экспериментальном фиброзе	

легких.....	67
Имуногистохимическая характеристика подмышечных и шейных лимфатических узлов крыс в группе контроля и при экспериментальном фиброзе легких.....	74
<b>Морфологическая и морфометрическая характеристика регионарных лимфатических узлов крыс при экспериментальном фиброзе легких, принимавших масло косточек граната.....</b>	<b>79</b>
Морфологическая и морфометрическая характеристика подмышечных лимфатических узлов крыс после коррекции маслом косточек граната.....	79
Морфологическая и морфометрическая характеристика шейных лимфатических узлов крыс после коррекции маслом косточек граната.....	82
Имуногистохимическая характеристика подмышечных и шейных лимфатических узлов крыс после коррекции маслом косточек граната.....	85
<b>Заключение.....</b>	<b>88</b>
<b>Выводы.....</b>	<b>113</b>
<b>Практические рекомендации.....</b>	<b>115</b>
<b>Список литературы.....</b>	<b>116</b>

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

<b>ГЦ</b> –	Герминативный центр
<b>ГЭ</b> –	Гематоксиллин-эозин
<b>РЛУ</b> –	Регионарные лимфатические узлы
<b>ЛФ</b> –	Лимфоидный фолликул
<b>КВ</b> –	Корковое вещество
<b>МВ</b> –	Мозговое вещество
<b>ИГХ</b> –	Иммуногистохимия
<b>ИЗЛ</b> –	Интерстициальные заболевания легких
<b>ИЛФ</b> –	Идиопатический легочной фиброз
<b>ПЗ</b> –	Паракортикальная зона
<b>ПЛУ</b> –	Подмышечные лимфатические узлы
<b>МЗ</b> –	Министерство здравоохранения
<b>ВОЗ</b> –	Всемирная Организация здравоохранения
<b>ACS</b> –	Американское онкологическое общество
<b>МАИР</b> –	Международное агентство по изучению рака
<b>ШЛУ</b> –	Шейные лимфатические узлы
<b>М</b> –	Средняя величина
<b>m</b> –	Ошибка средней величины
<b>P</b> –	Уровень достоверной вероятности

# **АНАЛИЗ ЛИТЕРАТУРЫ ПО МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫМ СВОЙСТВАМ КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ФИБРОЗЕ ЛЕГКИХ**

## **Морфофункциональные особенности регионарных лимфатических узлов в норме**

Лимфатические узлы (ЛУ) — это вторичные лимфоидные органы, расположенные по всей лимфатической системе. Они функционируют для фильтрации патогенного материала из лимфатической жидкости для поддержания здоровья организма. Макрофаги субкапсулярного синуса являются одними из первых, кто реагирует в ЛУ, благодаря своему стратегическому расположению в области субкапсулярного синуса. Эти макрофаги способствуют доставке иммунных комплексов к В-клеткам и фолликулярным дендритным клеткам внутри ЛУ [130; с. 239-247].

Точное знание нормальной анатомии лимфатической системы необходимо для понимания того, какие структурные изменения происходят у пациентов. В своей работе Suami H. et al. (2018), провели анатомические исследования и суммировали общую анатомию лимфатической системы и лимфатических узлов. Также, они представили свою новую анатомическую концепцию «лимфосому», которая описывает, как лимфатические сосуды в определенной области соединяются с одной и той же подгруппой регионарных лимфатических узлов.

Лимфатические эндотелиальные клетки (ЛЭК) образуют лимфатические сосуды и синусы лимфатических узлов и играют ключевую роль в формировании иммунного ответа и толерантности. В здоровом легком подавляющее большинство лимфатических сосудов располагается вдоль бронховаскулярных структур, в междольковых перегородках и в субплевральном пространстве. Предыдущие исследования на мышах и людях показали, что лимфатические сосуды необходимы для функционирования легких с периода новорожденности до взрослой жизни. Более того, изменения в лимфатических сосудах наблюдаются почти при всех

респираторных заболеваниях, при которых они анализировались. По мнению Trivedi A. et al. (2023) недавние работы указали на причинную роль лимфатической дисфункции в иницировании и прогрессировании заболеваний легких, указывая на то, что эти сосуды могут быть активными участниками патологических процессов в легких [129; с. 32-42].

Петренко В.М. (2015) полагает, что лимфатические узлы играют важную роль в жизнедеятельности человека и животных, хотя современные представления о месте ЛУ в их организме неоднозначны. Автор считает, что ЛУ существует как самостоятельная анатомическая система ЛУ, а не в составе лимфоидной системы: 1) функционально – благодаря лимфотоку как источнику антигенов для вторичных лимфоидных образований; 2) структурно – посредством рыхлой соединительной ткани между кровеносными сосудами и ЛУ. Лимфоидно-лимфатический аппарат представляет собой анатомическую основу иммунитета.

Анатомия иммунного процесса рассматривается в составе лимфатической системы, которая включает не только лимфатические сосуды и узлы, но и все лимфоидные образования, в том числе тимус. Общее устройство (конституция) иммунной (лимфоидной) системы, предопределяющее выполнение ею своей специфической функции, состоит в тесной связи лимфоидных структур с кровеносными сосудами. По их замкнутой, круговой цепи происходит (ре)циркуляция лимфоцитов. Петренко В.М. (2019) и Николенко В.Н. (2016) утверждают, что с момента закладки лимфоидные образования размещаются вокруг и вдоль аорты и ее ветвей, а также в связи с венами и лимфатическими сосудами. Последние могут служить не только дренажом лимфоидных образований, но и источником (афферентные сосуды при их наличии) поступления в лимфоидные образования антигенов.

И все же исследователи, по крайней мере работающие в одной области науки, должны говорить на одном языке. Специалисты медико-биологического профиля должны учитывать, что организм человека состоит,

конечно, из клеток, в т.ч. лимфоидных, но они объединяются в ткани, из которых состоят органы и системы органов. Лимфатические узлы и лимфоидная система – структурно-функциональные объединения, в отличие от аппаратов с функциональной общностью их компонентов, в т.ч. лимфоидно-лимфатического – анатомической основы иммунитета [14, с. 1-16; 39, с. 192-194].

Лимфатическая система участвует в организации иммунитета у человека и животных, поскольку лимфатическое русло осуществляет приток антигенов в лимфатические узлы и более простые лимфоидные образования (лимфоидные узелки и бляшки) с афферентными лимфатическими путями [10, с. 1-15; 13, с. 13-21; 40, с. 68-70].

Рядом учёных проведён подробный анализ истории исследования внутригрудных лимфоузлов. В последние десятилетия появилась возможность объединить все данные (терминологию, объем и технику лимфодиссекции), полученные в течение более ста лет [11, с. 33-38; 12, с. 1613-1616].

Традиционно считается, что лимфатические узлы состоят из трех частей: коры, паракортекса и мозгового вещества. В- и Т-клетки располагаются в отдельных областях внутри этих частей, взаимодействуют с антигенпрезентирующими клетками и подвергаются клональной экспансии. Понимание гистоморфологических особенностей лимфоидной дольки и роли сетчатого каркаса лимфатического узла и того, как они связаны с корой, паракортексом и мозговым веществом, обеспечивает уникальный подход к пониманию структуры и функции лимфатического узла [9, с. 46-54; 33, с. 167-168].

Kelch I.D. et al (2015) использовали новые методы визуализации и вычислений для установления топологии всей сети кровеносных сосудов мышечного лимфатического узла. Разработан основанный на морфологии подход для определения венул с высоким эндотелием, ключевых участков для экстравазации лимфоцитов. Эти данные представляют собой

всеобъемлющую и непрерывную сеть кровеносных сосудов всего органа и предоставляют контрольные измерения, которые будут информировать о моделировании сетей кровеносных сосудов, а также позволят сравнивать топологию сосудов в различных органах.

Инициирование адаптивных иммунных реакций зависит от осторожного маневрирования лимфоцитов и антигена в стратегически расположенных лимфатических узлах (ЛУ) и внутри них. Негематопозитические стромальные клетки формируют клеточную инфраструктуру, которая направляет этот процесс. Недавние достижения в идентификации и нацеливании *in vivo* на определенные стромальные популяции привели к поразительно новому пониманию функции стромальных клеток и выявили ранее не осознаваемый уровень сложности [66; с. 30-39].

Эффективное праймирование адаптивных иммунных реакций зависит от точной отправки лимфоцитов и антигенов в лимфатические узлы (ЛУ), которые стратегически распределены по всему телу. За последнее десятилетие все больше доказательств продвинули наше понимание стромальных клеток лимфатических узлов от рассмотрения их как простых вспомогательных клеток до рассмотрения их как критически важных клеточных игроков для модуляции адаптивных иммунных реакций. В данном исследовании Zou M. (2021) суммировал текущие достижения в отношении основных ролей, которые ЛУ играют в организации адаптивных иммунных реакций во время гомеостаза и инфекции, и подчеркиваем импринтинг специфической для местоположения информации микросредовыми сигналами в ЛУСК, тем самым адаптируя тканеспецифические иммунные реакции [144; с. 1-12].

Недавние исследования продемонстрировали, что лимфатические эндотелиальные клетки у мышей напрямую экспрессируют периферические тканевые антигены, включая тирозиназу, и вызывают делецию специфических CD8 T-клеток через лиганд программируемой смерти-1 (PD-

L1). Здесь авторы демонстрируют, что высокий уровень экспрессии периферических тканевых антигенов и PD-L1 ограничивается лимфатическими эндотелиальными клетками в лимфатических узлах, в отличие от лимфатических тканей. В своей работе Cohen J.N. (2014) раскрывает критическую роль микросреды лимфатических узлов в наделении лимфатических эндотелиальных клеток мощными толерогенными свойствами [68; с. 1-13].

Лимфатические узлы (ЛУ) состоят из сложных сетей эндотелиальных и мезенхимальных стромальных клеток. То, как лимфоидные стромальные клетки регулируют ремоделирование лимфоидной ткани и способствуют иммунным реакциям, остается плохо изученным. Учёные провели комплексный функциональный и транскрипционный анализ реакций ЛСК на вирусную инфекцию кожи и обнаружили, что подгруппы ЛСК реагировали устойчиво, с различной кинетикой для различных патогенов. По результатам исследования Gregory et al (2017), раскрывается сложность реакций ЛСК во время инфекции и предполагают, что усиленные сети стромальных клеток ЛУ поддерживают последовательные иммунные реакции [82; с. 406-418].

Фибробластические ретикулярные клетки (FRC) образуют дорожную клеточную сеть в лимфатических узлах (LN), которая обеспечивает важные хемотаксические, выживательные и регуляторные сигналы для иммунных клеток. Здесь Novkovic M. (2020) количественно определял важнейшие трехмерные морфометрические параметры и определяем топологические свойства, управляющие структурной организацией переплетенных сетей. Мы обнаруживаем, что система каналов демонстрирует меньшую ограниченность мира и меньшую устойчивость к возмущениям по сравнению с сетью FRC, в то время как надежная топологическая организация обеих сетей поддерживается независимо от рецептора лимфотоксина  $\beta$  [109; с.893-904].

Лимфатические узлы (ЛУ), где инициируются иммунные реакции, организованы в особые отсеки фибробластическими ретикулярными клетками (ФРК). ФРК фиксируют иммунные реакции, поддерживая

архитектуру ЛУ, привлекая иммунные клетки, координируя перекрестные помехи иммунных клеток и представляя антигены. Здесь авторы суммировали обновленные анатомические, фенотипические и функциональные идентичности подмножеств ФРК, углубляемся в топологическое и транскрипционное ремоделирование ФРК при воспалении и иллюстрируем перекрестные помехи между ФРК и иммунными клетками. Обсуждая функции ФРК в иммунитете и толерантности, Li L. (2021) выделяет современные терапевтические подходы на основе ФРК для поддержания физиологического гомеостаза, управления защитным иммунитетом, индукции толерантности к трансплантации и лечения различных заболеваний, связанных с иммунитетом [98; с. 723-734].

Лимфатические узлы изучались в течение десятилетий как основное место адаптивного иммунного ответа. В своей работе Bogoslawski A. (2018) описывает, как лимфатические узлы выполняют другую менее значимую функцию активного врожденного барьера. Патогены, перемещающиеся по лимфатическим сосудам, должны были бы иметь возможность проникать в кровотоки, если бы не стратегическая локализация лимфатических узлов вдоль лимфатических сосудов, которая препятствует системному доступу. Понимание того, как лимфатический узел функционирует как активный врожденный барьер, может способствовать улучшению защиты от распространения инфекций у пациентов [62; с. 1158-1161].

В своём исследовании Thomas S.N. (2016) представил современное механистическое понимание роли лимфатических узлов в регуляции биомолекулярных и клеточных перевозок из интерстиция, иммунного надзора периферических тканей, стромы и микрососудов лимфатических узлов, а также циркулирующих лимфоцитов, направляющихся в лимфатические узлы. В этом обзоре также обсуждаются последствия лимфатического транспорта для иммунитета, а также толерантности, и в заключение приводятся примеры того, как лимфатическое опосредованное

нацеливание на лимфатические узлы использовалось для иммунотерапевтических приложений.

Гистологическая оценка лимфатических узлов необходима для понимания иммуотоксических эффектов химических веществ, а полученные данные предоставляют важный компонент оценки риска для человека. Ежедневные повреждения, старение и токсины могут изменять нормальную гистологию и первичную функцию лимфатических узлов. Поэтому важно различать и дифференцировать поражения, которые возникают естественным образом во время нормального развития и старения, от тех, которые вызваны ксенобиотиками [21; с. 33-37].

Исследование регионарных дренирующих лимфатических узлов является важным шагом в обнаружении иммуотоксичности и других связанных изменений во время общих токсикологических исследований. Аналогичным образом, оценка RDL часто является ключевым компонентом оценки медицинских устройств. В данной работе Wancket L.M. (2019) исследовал концепции, которые следует учитывать при разработке неклинического исследования медицинских устройств, которое включает макроскопическую оценку, сбор, гистологическую обработку, микроскопическую оценку и документирование результатов в RDL.

Специализированные стромальные клетки занимают и помогают определять домены В- и Т-клеток, которые имеют решающее значение для правильного функционирования нашей иммунной системы. Используя культуры *in vitro* эмбриональных стромальных клеток мышей, исследователи показали, что передача сигналов, опосредованная ретиноевой кислотой, важна для дифференциации предшественников в направлении линии фолликулярных дендритных клеток, а также блокирует опосредованную лимфотоксином дифференциацию линии фибробластических ретикулярных клеток [96; с. 1-11].

Стромальный каркас паракортекса лимфатического узла построен фибробластическими ретикулярными клетками. Предшественники

миофибробластических FRC способны генерировать базовую инфраструктуру зоны Т-клеток, тогда как зависимое от LT $\beta$ R созревание FRC гарантирует полную иммунокомпетентность и, следовательно, оптимальную функцию ЛУ во время инфекции [65; с. 1013-1024].

В обзоре авторы фокусировались на последних достижениях в области иммунобиологии FRC, полученных из лимфатических узлов, представляя обновленный взгляд на критические контрольные точки во время их развития и их динамический контроль расширения и сокращения лимфатических узлов во время инфекции. Fletcher A.L. рассматривал формирующиеся терапевтические достижения, которые используют иммунорегуляторные свойства FRC [75; с. 350-361].

Современная парадигма описывает развитие ЛУ как запрограммированный процесс, который регулируется посредством взаимодействия между клетками-организаторами мезенхимальной лимфоидной ткани и клетками-индукторами гемопоэтической лимфоидной ткани. Открытие того, что фармакологически усиленное взаимодействие между клетками LT $i$  и LEC способствует формированию эктопических ЛУ, подчеркивает центральную функцию LT $o$  ЛУ [111; с. 80-92].

Для опосредования взаимодействий между входящими и местными иммунными клетками и стромальными клетками существует организованная сосудистая сеть внутри ЛУ. В исследовании рассмотрены последние данные о передаче сигналов, подчеркивается их важность в различных подгруппах в органогенезе и функционировании лимфатических узлов в здоровом состоянии, а также в активации лимфоцитов и формировании третичной лимфоидной структуры во время воспаления [88; с. 1-12].

Недавние исследования, которые когда-то считались двумя различными явлениями, показывают, что очень похожие сети паракринных взаимодействий регулируют формирование как вторичных, так и третичных лимфоидных структур. В исследованиях основное внимание уделено клеточным взаимодействиям между организацией и индукцией популяций

клеток, приводящим к образованию лимфатических узлов или организованных воспалительных инфильтратов [71, с. 21-25; 127, с. 12-14].

Прекращение основного оттока лимфы из печени в средостенные узлы прекращает передачу иммунологической информации в региональные узлы печени, расположенные в средостении [113; с. 157-163].

Узел состоит из пространств, выстланных лимфатическими эндотелиальными клетками и паренхимой. Первые пространства можно разделить на субкапсулярные синусы, лимфатические лабиринты в глубокой коре, промежуточные синусы и мозговые синусы. Губчатая структура паренхимы узла состоит из коллагеновых волокон, покрытых ретикулярными клетками. Паренхиму можно разделить на кору, глубокую кору и мозговой канатик. Лимфоциты мигрируют из паренхимы узла в лимфатические лабиринты в глубокой коре. Жидкости и мигрирующие клетки, прибывающие в узел, преимущественно текут через субкапсулярные синусы, промежуточные синусы и мозговые синусы в этом порядке [110; с. 69-76].

Структурные аспекты реакции лимфатических узлов при состояниях, протекающих иммунными нарушениями в организме, остаются недостаточно выясненными, что определяет целесообразность проведения дальнейших исследований в этом направлении [47; с. 1-4].

### **Влияние различных патологий на морфофункциональное состояние регионарных лимфатических узлов**

С появлением технологии сторожевых узлов у многих пациентов появилась возможность гистопатологической диагностики с использованием лимфатического картирования и селективной лимфаденэктомии. Структурная визуализация с использованием УЗИ, КТ и МРТ позволяет точно измерить объем лимфатических узлов, который тесно связан с неопластическим поражением. Исследования без ионизирующего излучения – это новые альтернативы сейчас вместе с такими методами, как широко используемая флуоресцентная или оптоакустическая визуализация [70; с. 1-15].

Старение лимфатических узлов приводит к снижению транспорта клеток в узлы и внутри них, нарушению структуры и организации узловых зон, неправильному расположению отдельных типов иммунных клеток и нарушению межклеточных взаимодействий, а также к изменению выработки адекватного количества лимфоузлов. Хемокины и цитокины, необходимые для пролиферации, выживания и функционирования иммунных клеток, нарушение гомеостаза наивных Т- и В-клеток и снижение долгосрочного гуморального ответа [64; с. 1-23].

Karampitsakos Т. и его команда анализировали экспрессию программируемой клеточной гибели-1 (PD-1)/лиганда запрограммированной клеточной гибели-1 (PD-L1) в лимфатических узлах средостения и тканях легких. Экспрессию мРНК PD-1, PD-L1 измеряли в трахеобронхиальных лимфатических узлах мышей после повреждения, вызванного блеомицином, на 14-й день. Наконец, исследовали влияние ингибитора PD-1, пембролизумаба, на фиброз легких, индуцированный блеомицином [90; с. 1-13].

Признаки увеличения лимфатических узлов средостения (LNE) при компьютерной томографии являются частым признаком при идиопатическом фиброзе легких (IPF). Giacomo Sgalla и его соавторы стремились выяснить, связано ли поражение лимфатических узлов средостения с ускоренным прогрессированием заболевания, и исследовали изменения, происходящие в лимфатических узлах средостения во время радиологического наблюдения за этими пациентами [78; с. 1-10]. Изучить точную связь между расположением опухоли и алгоритмом биопсии лимфатического узла (ЛУ) при раке эндометрия, ограниченном маткой, очень сложно. Точная биопсия СЛУ при ЭК, ограниченной маткой, показала частоту обнаружения ЛУ, сопоставимую с таковой при систематической лимфаденэктомии [118; с. 369-374].

Обнаружение сторожевых лимфатических узлов при немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ) является стратегией, которая может улучшить отбор пациентов, которым необходима более расширенная лимфаденэктомия. Это

исследование было направлено на уточнение стадии лимфатических узлов у пациентов с НМРЛ на ранней стадии, перенесших роботизированную резекцию легкого, путем применения инновационной интраоперационной идентификации сторожевых лимфатических узлов и патологической оценки с использованием одноэтапной амплификации нуклеиновых кислот [114, с. 761-772; 28, с. 1-27].

Фолликулярная лимфома, наиболее распространенная индолентная неходжкинская лимфома, представляет собой парадигму вклада иммунного микроокружения опухоли в начало заболевания, его прогрессирование и гетерогенный клинический исход. Обнаружено, что растворимый галектин-9 ограничивает противоопухолевую активность ритуксимаба, ритуксимаба и ниволумаба/ТИМ-3 [73; с. 1-14]. Соотношение лимфатических узлов (LNR) показывает количество вовлеченных лимфатических узлов, разделенное на количество лимфатических узлов, обнаруженных во время подмышечной ревизии. В этом исследовании изучалась прогностическая ценность соотношения ЛУ при метастатическом раке молочной железы (80, стр. 1995-2002). Метастатические шейные лимфатические узлы следует эффективно дифференцировать от лимфомы, туберкулезного лимфаденита и других доброкачественных лимфаденопатий [141; с. 1-12].

Трансбронхиальная игольная аспирация под контролем эндобронхиального ультразвука (EBUS-TBNA) в настоящее время считается методом выбора для инвазивной медиастинальной стадии рака легких. Трансбронхиальная криобиопсия — метод диагностики интерстициальных заболеваний легких, позволяющий получить больше тканей и образцов с сохраненной архитектурой. В настоящей работе авторы описывали первый случай EBUS-TBMS, выполненный в Бразилии [104; с. 1-2].

Семёнова А.Х. и соавт. (2019) определили частоту выявления, клинических и морфологических особенностей лимфаденопатии средостения (ЛС) у больных саркоидозом органов дыхания (СОД), диссеминированным туберкулезом легких (ДТЛ) и экзогенным аллергическим альвеолитом (ЭАА).

ЛС наблюдалась при всех исследованных гранулематозных заболеваниях легких, однако частота и степень ее выраженности, состав вовлекаемых групп ВГЛУ и характер морфологических изменений различен, что возможно использовать в диагностике [43; с. 685-694]. Увеличение лимфатических узлов средостения (MLN) при компьютерной томографии (КТ) грудной клетки распространено у пациентов с интерстициальным заболеванием легких (ИЗЛ) и может отражать иммунологическую активацию и последующий цитокин-опосредованный транспорт иммунных клеток. Включение данных о MLN и цитокинах в текущие модели прогнозирования может улучшить прогнозирование интерстициальных заболеваний легких [52; с. 747-759].

Используя строгий и проверенный протокол, авторы установили, что лимфаденопатия средостения (MLA) является сильным предиктором клинических исходов интерстициального заболевания легких (ИЗЛ), которое в этой статье считается уникальным гетерогенным заболеванием, включающим идиопатический фиброз легких, интерстициальная пневмония с аутоиммунными проявлениями, хронический гиперчувствительный пневмонит, заболевание соединительной ткани, связанное с ИЗЛ, и неклассифицируемый ИЗЛ [54; с. 1038-1040].

Наибольшую проблему в лечении рака легких, осложненного интерстициальной пневмонией, представляет острое обострение, при котором при отсутствии хирургических показаний альтернативное лечение ограничено. Таким образом, следует избегать хирургического вмешательства, противопоказанного пациенту из-за диагноза метастазов в легких, основанного только на изображениях узелков. Если в области плевры наблюдаются узелки, существует вероятность того, что это могут быть внутрилегочные лимфатические узлы наряду с метастазами в легких, и торакоскопическую операцию следует проводить заранее, учитывая все данные [106, с. 5-8]. Результаты позволяют предположить, что важную роль в сенсibilизации аллергенов и воспалении легких играет измерение в

понимание дифференциации и функции клеток Tfh2, тем самым обеспечивая основу для установления причинно-следственной связи между окружающей средой и заболеванием [95; с. 1-14].

При клиническом наблюдении MALT-лимфомы с поражением лёгких, плевры, внутригрудных лимфатических узлов, установлено, что отсутствие специфических жалоб и характерных рентгенологических признаков при MALT-лимфоме лёгкого, не позволяют однозначно определить вид патологии, а также что окончательный диагноз следует устанавливать лишь после морфологического и иммуногистологического исследования [46; с. 92-100].

Ji H. et al (2023) описали текущие знания об анатомических и физиологических характеристиках ЛУ, а также молекулярных механизмах ЛУ. Клиническое значение LNM в различных анатомических областях суммируется, включая роль LNM в стадировании, прогностическом прогнозировании и выборе лечения для пациентов с различными типами рака. А также обсуждаются новые исследования и академические споры относительно стратегий распознавания, диагностики и терапевтических вмешательств метастатических LN [87; с. 1-33].

### **Использование различных методов диагностики и лечения при фиброзе лёгких**

Идиопатический легочный фиброз (ИЛФ) выделяется как одна из наиболее агрессивных форм интерстициальных заболеваний легких (ИЗЛ), в настоящее время не поддающихся окончательному лечению. Мультидисциплинарное обсуждение (MDD) в настоящее время считается краеугольным камнем в диагностике и дифференциации подтипов ИЗЛ. Шкала гендерно-возрастной физиологии (GAP), разработанная для оценки прогноза ИЛФ на основе пола, возраста, принудительной жизненной емкости и диффузионной способности монооксида углерода (DLCO), ограничена тем, что не учитывает одышку и функциональные нарушения во время теста

ходьбы. Мы предложили клиническую оценку на основе MDD для прогнозирования смертности среди этих пациентов [99; с. 1-10].

Оптическая когерентная томография (ОКТ) и конфокальная лазерная эндомикроскопия (КЛЭ) — это новые методы визуализации с разрешением, близким к микроскопическому, которые можно легко и безопасно комбинировать с традиционной бронхоскопией. С помощью этих методов можно визуализировать анатомические отделы легких, связанные с заболеванием, в режиме реального времени. При обструктивных заболеваниях легких можно идентифицировать и количественно оценить слои стенки дыхательных путей и связанные с ними структурные ремоделирования [79; с. 190-205].

Применение антифиброзных препаратов пирфенидона и нинтеданиба позволяет в некоторой степени замедлить прогрессирование заболевания, но не оказывает обратного влияния на прогноз. Возможность трансплантации легких также ограничена из-за противопоказаний к трансплантации, возможных осложнений после трансплантации и риска летального исхода [125; с. 1-14].

По сравнению с другими препаратами Нинтеданиб и Пирфенидон позволяют существенно замедлить снижение функции легких у пациентов с ИЛФ, а безопасность при этом выше. Поэтому их можно в дальнейшем продвигать в клинической практике. Варфарин и амбризентан не следует применять в клинических целях при ИЛФ, поскольку их безопасность и эффективность ниже, чем у других препаратов и плацебо. Памревлумаб может стать важным препаратом для лечения ИЛФ в будущем [140; с. 1-25].

При исследовании пациентов с ИФЛ из регистра интерстициальных заболеваний лёгких в больнице Сеульского национального университета два торакальных рентгенолога независимо исследовали ЛНЭ средостения, фиброз паренхимы легких и помутнения по типу «матового стекла» на компьютерной томографии грудной клетки каждого пациента. которые были

получены при постановке диагноза. Были проанализированы показатели смертности и госпитализации [119; с. 1-11].

В исследование были включены пациенты с идиопатическим легочным фиброзом (ИЛФ) или неспецифической интерстициальной пневмонией за последние 9 лет. Исходная КТ грудной клетки и последующее сканирование пациентов оценивались на предмет степени фиброза легких. Пациенты с ИЛФ, связанными с токсичностью препарата, саркоидозом, хроническим гиперчувствительным пневмонитом и другими редкими идиопатическими интерстициальными пневмониями были исключены [81; с. 329-335].

В базах данных Medline и Embase систематически проводился поиск всех популяционных исследований заболеваемости или смертности от идиопатического легочного фиброза. Серии клинических случаев и исследования распространенности были исключены. Данные были получены независимо двумя авторами с использованием заранее заданной формы с оценкой методологического качества. Заболеваемость идиопатическим легочным фиброзом растёт во всём мире, и показатели совпадают в разных странах. Текущие данные свидетельствовали о том, что заболеваемость аналогична заболеваемости такими заболеваниями, как рак желудка, печени, яичек и шейки матки [85; с. 795-806].

Обухова Т. Ю. (2020) проанализировала показатели состояния дыхательной, сердечно-сосудистой систем и метаболического статуса у 383 работников асбестообогатительной фабрики. Было выявлено достоверное влияние кардиоваскулярной и метаболической патологии на сроки формирования асбестоза.

В последние годы благодаря международным диагностическим исследованиям, которые показали наличие существенных, рентгенологических и морфологических особенностей, диагностика идиопатического легочного фиброза была усовершенствована. В 5% случаев ИЛФ протекает с обострением. Указанные обстоятельства обусловили необходимость разработки диагностических биомаркеров, специфичных для

ИЛФ, а также прогностических биомаркеров для лечения больных для принятия тактики лечения, в т.ч. трансплантации легких. После регистрации противофиброзных препаратов (Пирфенидона и Нинтеданиба) и выявления новых уровней терапевтических мишеней возникла необходимость в поиске терапевтических маркеров - биомаркеров, позволяющих оценить эффективность препарата в начале лечения, что позволит избежать нежелательных явлений и повысить эффективность лечения [4, с. 56-64; 23, с. 99-106].

Yu Minhua (2020) определил предикторы развития фиброза легких путем объединения результатов КТ и клинических особенностей пациентов, выписанных после лечения от COVID-19. В ретроспективном исследовании приняли участие 32 пациента с подтвержденным диагнозом COVID-19, которые были разделены на две группы в соответствии с признаками фиброза на последних контрольных компьютерных томограммах. Клинические данные и особенности компьютерной томографии всех пациентов на разных стадиях были собраны и проанализированы для сравнения [142; с. 746-755].

Выбор тактики лечения пациентов с интерстициальными легочными болезнями представляет собой актуальную проблему современной пульмонологии, обусловленную сложностью прогнозирования их течения. Давидовская Е. И. и соавт. (2023) полагают, что прогрессирующие фиброзирующие интерстициальные легочные болезни имеют сходство в патогенетических механизмах, участвующих в фиброзном ремоделировании.

Считается, что легочный фиброз является результатом aberrантного восстановления повторяющихся повреждений эпителия. Дифференциальная биология пациентов с использованием клеточных систем и тканей непосредственно пациентов и значимых для пациента стимулов, а также улучшенных моделей животных *in vivo*, отражающих фиброзную нишу, стала отправной точкой для открытия точных лекарств. Клиническая разработка новых терапевтических средств для лечения редких фиброзных состояний легких затруднена, например, из-за гетерогенности пациентов и отсутствия

соответствующих биомаркеров для прогнозирования траектории заболевания для отдельного пациента и реализации стратегий обогащения [134; с. 1-9].

Kevin K. Brown et al. (2020) использовали в своей работе данные исследований INBUILD и INPULSIS для изучения естественного течения прогрессирующих фиброзирующих интерстициальных заболеваний легких (ИЗЛ). Эти результаты показывали, что пациенты с фиброзирующими ИЗЛ, отличными от ИЛФ, которые прогрессируют, несмотря на лечение, имеют последующее клиническое течение, подобное пациентам с нелеченной ИЛФ, с высоким риском дальнейшего прогрессирования ИЗЛ и ранней смертности.

В настоящее время для лечения фиброзирующего интерстициального заболевания легких не одобрено ни одного препарата, кроме Нинтеданиба и Пирфенидона для лечения идиопатического легочного фиброза. При других прогрессирующих фиброзирующих ИЗЛ основой медикаментозной терапии является иммуносупрессия. Однако предполагается, что, как только ответ на повреждение легких при фиброзирующих ИЗЛ достигнет стадии, на которой фиброз становится прогрессирующим и самоподдерживающимся, для замедления прогрессирования заболевания потребуются целенаправленная антифиброзная терапия. Нинтеданиб, внутриклеточный ингибитор тирозинкиназ, продемонстрировал антифиброзное, противовоспалительное и сосудистое ремоделирующее действие в нескольких доклинических моделях фиброза, независимо от причины повреждения [69; с. 1-9].

Несколько крупномасштабных эпидемиологических исследований по изучению идиопатического легочного фиброза было проведено преимущественно в западных странах. Есть несколько исследований, проведенных в азиатских странах. Остается неясным, существуют ли этнические различия в ИЛФ. Natsuizaka M. Et al. попытались определить текущий статус ИЛФ в азиатских популяциях и сравнить его с западных стран.

Роль прецизионной медицины в лечении идиопатического легочного фиброза еще предстоит установить, но как считают авторы исследования, она

имеет большие перспективы для предоставления пациентам таргетной и высокоэффективной терапии [63; с. 1213-1218].

Два одобренных в настоящее время препарата для лечения — Пирфенидон и Нинтеданиб — замедляют прогрессирование заболевания, но не могут его заблокировать или обратить вспять. Растущее число исследований показывает, что фенотип ИЛФ является общим клиническим исходом множества различных патофизиологических механизмов, которые определяют подгруппы заболеваний, характеризующиеся специфическими генетическими и молекулярными биомаркерами (эндотипами) [100, с. 379-395; 117, с. 123-130].

Для определения причины фиброза легких требуется глубокое понимание патогенеза фиброза легких и широта знаний о возбудителях и связанных с ними нарушениях, которые могут привести к фиброзу легких. Абсолютно необходимо всестороннее обследование пациента, начиная с подробного анамнеза, включающего профессиональный анамнез и анамнез окружающей среды, поскольку фиброгенное воздействие может возникать во многих условиях [93; с. 86-96].

Легочный фиброз индуцировали у мышей типа IQGAP1 (KO) и дикого типа (WT) путем однократного внутритрахеального введения блеомицина. 3 недели спустя мышей подвергали эвтаназии и исследовали. Akter T. et al. заметили, что мышья типа IQGAP1 KO характеризовалась пониженной скоростью полимеризации актина и уменьшенным накоплением актина в легких по сравнению с мышьями WT [53; с. 1-12].

Благодаря постоянно растущим интенсивным исследованиям идиопатического легочного фиброза (ИЛФ) был достигнут значительный прогресс. Натуральные продукты являются огромным источником открытия новых лекарств, и многочисленные исследования показали, что многие натуральные продукты демонстрируют потенциальные терапевтические эффекты в отношении ИЛФ за счет модуляции одной или нескольких ветвей сигнального пути ERS [72, с. 1627-1650; 49, с. 10-16].

Наличие перицитов в эндотелии сосудов ЛУ приводит к воспалению и фиброзу в интерстиции легких и альвеолярном пространстве за счет выброса различных цитокинов и хемокинов. Перициты также стимулируют пролиферацию и активацию фибробластов, тем самым способствуя прогрессированию ПФ. Таким образом, очевидно, что перициты играют важную роль в развитии фиброза легких, а также открывают возможные пути целенаправленного терапевтического вмешательства против этого состояния [84; с. 1-12].

При фиброзирующем альвеолите чаще выявляется неявная манифестация с немногочисленными неспецифическими проявлениями, среди которых – минимальная, малозаметная для пациента одышка, редкий непродуктивный кашель, утомляемость. Это создает определенные трудности для своевременной диагностики заболевания [7, с. 9-10]. Особый интерес представляет изучение интерстициальной легочной болезни, ее клинических и морфологических характеристик для выделения различных типов фиброзирующих процессов. Все интерстициальные легочные болезни должны быть диагностированы с помощью синоптической междисциплинарной оценки клинических, рентгенологических и морфологических критериев [26, с. 66-72; 35, с. 100-106].

Сперанская А. А. и соавторы (2020) попытались оценить изменение лучевой и морфологической картины фиброзирующих болезней легких (ФБЛ) при их длительном наблюдении. В итоге определилось, что накопление опыта клиничко-лучевого обследования пациентов с ФБЛ обуславливает необходимость разработки новых подходов в диагностической и лечебной тактике.

В настоящее время иммуномодулирующие препараты являются основой лечения интерстициального заболевания легких, не связанных с ИЛФ. В этой работе Maher T.M. et al. (2019) рассматривали данные о методах лечения, используемых в настоящее время для лечения ИЗЛ, связанных с аутоиммунными заболеваниями, и других ИЗЛ, а также текущие

исследования иммунодепрессантов и антифиброзной терапии у пациентов с этими ИЗЛ. Нинтеданиб является внутриклеточным ингибитором тирозинкиназ, который был одобрен для лечения ИЛФ и, как недавно было показано, снижает скорость снижения функции легких у пациентов с ИЗЛ, связанным с системной склеродермией (СС-ИЗЛ). Данные *in vitro* показывают, что Нинтеданиб ингибирует несколько этапов инициации и прогрессирования фиброза легких, включая высвобождение провоспалительных и профибротических медиаторов, миграцию и дифференцировку фиброцитов и фибробластов, а также отложение внеклеточного матрикса. Нинтеданиб также ингибирует пролиферацию сосудистых клеток [138, с. 1-9; 97, с. 575-586; 128, с. 1-9].

Пирфенидон, который имеет другой, но в значительной степени неизвестный механизм действия, может также проявлять активность при других фиброзирующих ИЗЛ с прогрессирующим фенотипом, в дополнение к его известной эффективности при ИЛФ [122; с. 143-150].

Постобработка MCTR1 ослабила вызванное BLM воспаление и фиброзные изменения у мышей, что позволяет предположить, что MCTR1 может служить новой терапевтической стратегией при заболеваниях, связанных с фиброзом [112; с. 1873-1881].

Из-за различий в методологиях исследования во всем мире наблюдаются различия в зарегистрированной заболеваемости и распространенности ИЛФ. На основе стран, включенных в данный анализ, оценивали скорректированную заболеваемость и распространенность ИЛФ в диапазоне 0,09–1,30 и 0,33–4,51 на 10 000 человек соответственно. Согласно этим оценкам распространенности, ИЛФ остается редким заболеванием [101; с. 1-10].

Пирфенидон в настоящее время одобрен в ЕС для лечения идиопатического легочного фиброза (ИЛФ) легкой и умеренной степени тяжести и имеет благоприятное соотношение риска и пользы. Однако

существует несколько других прогрессирующих фиброзных заболеваний легких, при которых традиционная противовоспалительная терапия недостаточно эффективна, и антифибротическая терапия может предложить новый вариант лечения. Текущий протокол исследования уникален в плане отбора пациентов с различными формами фиброза легких, которые, однако, имеют общие существенные патофизиологические характеристики [61; с. 1-9].

В ряде исследований были созданы модели фиброза легких у лабораторных животных индуцированный диоксидом азота в первом случае и посредством аэрозольной доставки липополисахарида – во втором, что является точным методом, позволяющим систематически изучать прогрессирование фиброза, биомаркеры и потенциальные терапевтические вмешательства. Результаты проливают свет на сложные механизмы, лежащие в основе легочного фиброза, и предлагают информацию для разработки лекарств в борьбе с этим изнурительным заболеванием [58, с. 43-46; 30, с. 145-150]. Также эти результаты дают возможность судить о системном влиянии фиброза легких, подчеркивая важность учета внелегочных проявлений при клиническом лечении этого заболевания [59; с. 65-68].

### **Взаимосвязь между COVID-19 и фиброзом лёгких**

По официальным данным Всемирной организации здравоохранения на конец мая 2022 г. пандемия вирусного инфекционного заболевания, вызванная SARS-CoV-2, поразила свыше 500 млн человек и стала причиной смерти свыше 6 млн. Среди лиц, переболевших COVID-19, довольно часто встречается постковидный синдром. Разрозненные эпидемиологические исследования по постковидному синдрому, тем не менее, свидетельствуют о его высокой актуальности. Одним из проявлений постковидного синдрома является развитие фиброза легких (ФЛ). Чучалин А.Г. (2022) обратил внимание на различные фенотипы постковидного синдрома и частоту

развития ФЛ, который, как показывает клиническая практика, наиболее часто встречается у лиц, перенесших COVID-19 в тяжелой форме.

Коронавирусное заболевание 2019 года (COVID-19), вызванное тяжелым острым респираторным синдромом коронавируса-2 (SARS-CoV-2), впервые появилось в декабре 2019 года в Ухане, Китай, и переросло в пандемию. Поскольку ангиотензинпревращающий фермент 2 (АПФ2) является одним из потенциальных рецепторов-мишеней для SARS-CoV-2 в организме человека, который экспрессируется в различных тканях, возможно поражение нескольких органов. Хотя патологоанатомическое исследование не является возможным методом диагностики, оно может выявить патологические изменения, патогенез заболевания и причину смерти в случаях COVID-19 [124; с. 1-5].

Коронавирус 2 тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2) быстро распространился и вскрытие может предоставить важную информацию для руководства по ведению пациентов с коронавирусной болезнью 2019 года (COVID-19). Авторы сообщали о соответствующих сердечно-легочных результатах, в первой серии вскрытий, причина смерти которых связана с COVID-19 (76, стр. 681-686). Легочный фиброз после COVID-19 является одной из основных проблем, возникающих после выздоровления от этой пандемии. Факторы риска легочного фиброза после COVID-19 включают возраст, мужской пол и тяжесть заболевания COVID-19 [56, с. 173-181; 143, с. 77-83].

Несмотря на широкий спектр клинических особенностей, острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) стал основной причиной смертности пациентов с коронавирусной инфекцией. Факторы риска и сопутствующие заболевания, такие как пожилой возраст с ограниченной функцией легких, ранее существовавший диабет, гипертония, сердечно-сосудистые заболевания и ожирение, повышают риск тяжелой инфекции COVID-19. Повышение уровня маркеров воспаления, таких как трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), интерлейкин-6 (IL-6) и

экспрессия матриксных металлопротеиназ 1 и 7 (ММР-1, ММР-7), а также отложение коллагена в месте повреждение легких приводит к обширному рубцеванию легких и фиброзу [103; с. 1-7].

Данные показывают, что у пятой части пациентов после Covid-19 развивается фиброзная ткань в легких. Вспышка атипичной пневмонии в начале 2000 года привела к хроническому фиброзу легких у части пациентов (около 4%) и коррелировала со снижением функции легких и объема форсированного выдоха. Сходство между вирусными инфекциями, вызывающими SARS, и Covid-19 поразительно, за исключением того, что новый коронавирус SARS-CoV-2 оказался еще более заразным. SARS-CoV-2 зависит от связывания с ангиотензинпревращающим ферментом 2 (АПФ2), который является частью ренин-ангиотензиновой системы (РАС) [86; с. 1-5].

Высокая смертность при пандемии была связана с острой тяжелой дыхательной недостаточностью, приводящей к переводу в отделение интенсивной терапии и интубации. Столкнувшись с этим смертельным заболеванием, необходимо проводить исследования и клинические наблюдения, чтобы оценить долгосрочные последствия острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) COVID-19. Vasarmidi E. и соавторы (2020) изучили мощные клинические и лабораторные биомаркеры, чтобы иметь возможность прогнозировать подгруппу пациентов, у которых будет ухудшаться состояние или развиваться фиброз легких.

Были собраны доказательства того, что особенно тяжело больные пациенты с COVID-19 страдают от легочной дисфункции даже через несколько месяцев после постановки диагноза и, возможно, никогда полностью не выздоровеют. Инфекция SARS-CoV-2 альвеолярных эпителиальных клеток и несбалансированная воспалительная реакция приводят к DAD и запускают фиброзную реакцию, необходимую для регенерации эпителиального барьера и функции легких [94; с. 1-10].

CoV-2 и иммунный ответ хозяина в легких выявили возможность длительного повреждения легких. Взаимодействие вируса с рецепторами

ACE2 и последующий воспалительный каскад закладывает основу для последующих фиброзных изменений, которые потенциально могут привести к нарушению дыхательной функции на всю жизнь [60; с. 30-34].

В настоящее время начинают проявляться долгосрочные осложнения пневмонии, вызванной Covid-19, но данные предыдущих вспышек коронавируса, таких как тяжелый острый респираторный синдром (SARS) и ближневосточный респираторный синдром (MERS), позволяют предположить, что у некоторых пациентов будут возникать долгосрочные респираторные осложнения, вызванные пневмонией Covid-19 инфекционное заболевание. Всё это требует более тщательного изучения проблемы и поиска новых путей решения ее [77, с. 1009-1016; 2, с. 204-215].

Многие из эпидемиологических факторов риска и биологических процессов, которые приводят к вирусно-индуцированному ОРДС, схожи с ИЛФ. Авторы провели наблюдения, изложенные в этой работе, которые помогут специалистам по респираторным заболеваниям и интенсивной терапии работать вместе над хорошо спланированными исследованиями антифиброзной терапии тяжелой пневмонии, вызванной COVID-19 [18; с. 115-120].

Легочный фиброз является признанным осложнением ОРДС. Однако большинство последующих исследований, которые включали как физиологические измерения, так и КТ грудной клетки, показали, что стойкие рентгенологические отклонения после ОРДС не имеют большого клинического значения и стали менее распространенными в эпоху защитной вентиляции легких [123; с. 750-752].

У трех пациентов в результате перенесенной COVID-19 пневмонии появилась стойкая и сильно выраженная дыхательная недостаточность с рентгенологическими признаками диффузного легочного фиброза. При компьютерной томографии органов грудной клетки признаками фиброза служили тракционные бронхоэктазы и паренхиматозные тяжи, а также многочисленные мелкие субплевральные кистозные воздушные пространства

(симптом «сотового легкого»). Во всех случаях факторами риска были мужской пол, пожилой возраст пациентов и мультикоморбидность [19; с. 413-421].

Анализ научных публикаций по результатам исследований, проведенных в период пандемии COVID-19, свидетельствует о вероятном риске фиброзирования легочной ткани или прогрессирования уже имеющегося интерстициального заболевания с развитием фиброза легких у пациентов, инфицированных вирусом SARS-CoV-2. Фиброзный гистологический паттерн выявлялся примерно в 22% случаев COVID-19, начиная с 3-й недели заболевания. Молекулярная основа прогрессирования легочного фиброза после заражения вирусом SARS-CoV-2 остается неясной, но считается многофакторной, включающей прямые вирусные эффекты, иммунную дисрегуляцию, цитокиновый шторм и усиленный окислительный стресс. Требуется ответ на вопрос, почему у определенной части пациентов происходит переход к неконтролируемой клеточной пролиферации с накоплением фибробластов и миофибробластов, чрезмерным отложением коллагена и внеклеточного матрикса, что приводит к прогрессирующему фиброзу легких, более тяжелому течению заболевания и повышает риск тяжелых осложнений и смертности [24; с. 492-496].

Заболевание, вызванное новым вирусом SARS-CoV-2, представляет собой прежде всего респираторное заболевание, которое может поражать множество других систем организма, в том числе сердечно-сосудистой и желудочно-кишечной систем. Тяжесть заболевания варьируется от бессимптомного течения до тяжелого острого респираторного дистресс-синдрома, требующего интенсивной терапии и искусственной вентиляции легких, что может привести к дыхательной недостаточности и смерти [89, с. 228-240; 132, с. 1709-1712].

До сих пор не существует специфической терапии для лечения поствоспалительного легочного фиброза, вызванного инфекцией COVID-19. Некоторые методы лечения могут быть рассмотрены для уменьшения

процесса фиброза в легких после инфекции COVID-19, а именно пирфенидон, нинтеданиб и мезенхимальные стволовые клетки. Для улучшения физического и психологического состояния пациентов с легочным фиброзом после COVID-19 может быть назначено многопрофильное вмешательство, основанное на персонализированной оценке и лечении, которое включает в себя тренировку упражнений, обучение и поведенческую модификацию [116; с. 141-142].

Респираторные симптомы, включая одышку и нарушения дыхания, являются частым признаком состояния после COVID-19; кашель, который широко распространен во время острого заболевания, менее распространен в состоянии после COVID-19. Сочетание легочных и внелегочных последствий (например, снижение толерантности к физической нагрузке и слабость) может способствовать стойкой и инвалидизирующей одышке у людей, перенёсших COVID-19; стратегии реабилитации пост-реанимационного синдрома и хронических респираторных заболеваний являются информационными услугами для людей с этим заболеванием [120; с. 709-725].

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

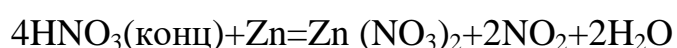
### **Дизайн и описание материала проведенного исследования**

Объектом исследования для эксперимента являлись 168 половозрелых белых беспородных крыс обоего пола, 6-ти, 9-ти и 12-месячного возраста. Все наблюдаемые животные были разделены на 3 сопоставимые группы, находившихся в стандартных условиях вивария. При работе с лабораторными животными соблюдены все правила биологической безопасности и этические принципы работы с лабораторными животными, приведенные в методическом пособии Нуралиева Н.А., Бектимирова А., Алимовой М.Т., Суванова К.Ж. «Правила и методы работы с лабораторными животными при микробиологических и иммунологических исследованиях» (2016 г.).

В целях воспроизведения моделирования фиброза лёгких подобраны белые беспородные крысы и использована экспериментальная модель «фиброза лёгких с двуокисью азота, с пассивным введением в респираторные пути крыс ядовитых газов NO<sub>2</sub> в закрытой камере». Помещение содержания крыс, соответствовала требованиям, предъявляемым к условиям содержания этого вида лабораторных животных (t 20-24 С°, влажность 60%, свет/темнота 12 ч/12 ч). Подача воды осуществлялась без ограничений и при кормлении животных использован сбалансированный рацион питания. Перед началом эксперимента животные прошли двухнедельный карантин и для приучения к пребыванию в экспериментальной камере (требования этического комитета и комиссии по контролю и использованию лабораторных животных, которые регламентированы «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утверждённых Комитетом по этике МЗ РУз (№ 6/16-1699 от 27.09.2022 г.), после исключения соматических или инфекционных заболеваний переведены на обычный режим вивария.

На клетках животных экспериментальных и контрольных групп была размещена надпись (паспорт) с указанием общего количества белых беспородных крыс, даты начала эксперимента и имени ответственного за

проведение исследования. Крысы были разделены на 3 основные группы в зависимости от возраста (n=168): I группа – контрольная 6, 9 и 12 месячные крысы (n=52); II группа – крысы, получавшие диоксид азота на протяжении 90 дней 6, 9 и 12 месячного возраста (n=60); III группа – крысы, получавшие диоксид азота на протяжении 90 дней 6, 9 и 12 месячного возраста и после окончания эксперимента получавшие масло косточек граната в дозе 0,2 мл (n=56). Перед началом эксперимента по созданию модели фиброза лёгких всех экспериментируемых крыс (n=116), содержащихся в специальных для содержания клетках, погружали в герметично закрытую камеру объемом 0,34 (0,7x0,4x1,2м) кубических метров, имеющую выводную трубу с вмонтированным вентилятором, через которую выброс ядовитых веществ производился в открытый атмосферный воздух. С противоположной стороны имелась отдушина, плотно закрывающаяся во время отравления экспериментальных животных. Роль отравляющего вещества выполняла двуокись азота, полученная путем химической реакции азотной кислоты с металлом цинка. Для создания концентрации отравляющего вещества в пределах превышающую ПДК (разовая концентрация в воздухе 0,4мг/м<sup>3</sup>), а именно 30-40мг/м<sup>3</sup> (Золотницкая В.П. с соавторами, 2017 г.) использована реакция азотной кислоты с цинком внутри бокса, рассчитанная по формуле:



В реакции использована концентрированная азотная кислота и Zn 0,08 мг соответственно. Концентрация в воздухе паров отравляющего вещества выведены путем химических и математических уравнений. Вследствие реакции с металлом азотной кислоты выделяются пары ядовитого вещества двуокиси азота. Внутри камеры был вмонтирован вентилятор для создания одинаковой концентрации NO<sub>2</sub> по всему объему бокса. Животные подвергались действию отравляющего ядовитого вещества ежедневно в течении 30 минут три раза в сутки с интервалом 15 минут между отравлениями. Интервалы проветривания камеры произведены для удаления накопившейся углекислого газа выделяющиеся при дыхании животных.

Проветривание бокса производилось путем вытяжки по вытяжной трубе с открытой отдушиной камеры. После каждого проветривания камеры повторно нагнеталось отравляющее вещество.

Для коррекции вызванной патологии в организме животных было применено масло косточек граната ООО «AGROECO OIL» производства Бухара, Узбекистан. Препарат выпускается во флаконах 50 мл в виде очищенного масла, которую можно применять перорально и наружно. Цвет масла – нежно янтарный, слегка красноватый, имеет слабовыраженный запах кожуры граната. Консистенция масла обволакивающая. На коже быстро впитывается и не различается, создает дополнительный защитный барьер. Плотность 0,9426 г/дм<sup>3</sup> вязкая, тягучая, густая, не смешивается с водой. Кислотно-щелочная среда (Ph) равна 5,05. В составе масла имеются жирная Омега-5 пуниковая (гранатовая) кислота, которая составляет больше половины, незначительно имеются линолевая, стеариновая, пальметиновая и олеиновая кислота, в большом количестве содержится витамин Е, в высокой концентрации витамины А, С и К (Табл. 2.1.1.). Наряду с вышеупомянутыми в составе масла присутствует кальций, магний, калий и селен, а также токоферолы, бета-систостеролы, стигмастеролы и кампестеролы. Высокое антиоксидантное свойство обусловлено антацианами, танинами и эллаговой кислотой. Масло косточек граната защищает от свободных радикалов, способствует усилению иммунитета и препятствует хроническим воспалительным процессам, выступает в качестве антивирусной и антибактериальной активной добавки к питанию.

**Таблица 2.1.1.**

Жирно-кислотный состав масла косточек граната, % от массы кислот:

Кислоты	Содержание (%)
Пальмитиновая кислота	7,65
Линолевая кислота	8,72
Олеиновая кислота	12,22
Линолеидиновая кислота	0,57

Стеариновая кислота	5,82
Пуниковая кислота	44,57
а-Элеостеариновая кислота	6,87
Каталповая кислота	4,23
в-Элеостеариновая кислота	4,08
Эйкозеновая кислота	1,87
Арахидоновая кислота	3,21
Лигноцериновая кислота	0,19
Конъюгированные линоленовые кислоты, всего	59,75

По истечении 90-дневного срока, из группы животных с экспериментальной группы были выбраны 56 подопытных крыс для коррекции и им перорально вводили масло косточек граната.

Крысам (n=56) экспериментальной группы в течение 10 дней металлическим зондом внутрижелудочно с помощью металлического зонда вводили масло в объеме 0,2 мл (две капли). Для отличия крыс данной группы, т.е. тем, кто получал масло косточек граната передние лапки окрашивали раствором фукарцина.

Всего в опытах было использовано 168 крыс, из них в процессе экспериментов погибло всего 4 (табл. 2.1.2.).

**Таблица 2.1.2.**

**Разделение всех экспериментальных животных в зависимости от  
возраста**

№	Характер эксперимента	Возраст животных		
		6-ти месячные n=40	9-ти месячные n=40	12-ти месячные n=40
1	Контрольная группа	18	16	18 (1)
2	Крысы, получавшие диоксид азота на протяжении 90 дней	20 (1)	20	20 (1)
3	Крысы, получавшие	18	18	20 (1)

диоксид азота на протяжении 90 дней получавшие масло косточек граната в дозе 0,2 мл			
---	--	--	--

*Примечание.* В скобках указано количество крыс, погибших во время эксперимента.

Забой животных проводили в соответствующие сроки в утренние часы, натошак посредством мгновенной декапитации под эфирным наркозом.

Для изучения структурных изменений лимфоузлов после 10-дневной коррекции маслом косточек граната забой животных проводили на 2-сутки после окончания коррекции.

После вскрытия крыс извлекали подмышечные и шейные лимфатические узлы.

Для изготовления гистологических препаратов вначале ткани были зафиксированы. Фиксация является важным этапом подготовки тканей, целью которого является предотвращение аутолиза тканей. Аутолиз — это распад тканевых компонентов и клеточных органов, при котором в выделенные ткани попадают патологические микробактерии, и мы не можем получить необходимые данные из выделенной ткани. Чтобы получить хорошие результаты, полученные материалы необходимо немедленно поместить в фиксирующие растворы. Несмотря на большое количество фиксирующих растворов, большинство материалов фиксируются в нейтральном растворе 10% формалина. Соотношение формалина и полученного материала 10:1, то есть 10 мл формалина на 1 см<sup>3</sup> ткани, если это сделать, то ткань будет иметь хорошую фиксацию в течение 24-48 часов. Тара с формалином должна быть герметично закрыта.

После фиксации кусочки тканей упаковывали в пластиковые коробки. Фиксированные ткани были обрезаны скальпелем, так как материал, который должен вместить эти кассеты, не должен быть большим, так как он не должен полностью заполнять кассету, а полученные материалы не должны быть слишком толстыми, как правило, более 4 мм.

Обработка тканей: материалы для обезвоживания, погружали в раствор спиртов с восходящей концентрацией (50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 96% и 100%) на срок до одного часа в каждой концентрации. Затем заливали в спирт-хлороформ на 1 час, чистый хлороформ-1 на один час, чистый хлороформ-2 на один час, хлороформ+парафин на срок до одного часа в термостате 37С, парафин-1 и парафин-2 на один час. 45 минут в термостате при температуре 56°С. Для удаления спирта из тканей и хорошей инфильтрации парафиновой ткани был использован раствор ксилола.

Затем коробки с материалами были помещены в термостат, заполнены парафином, полученные коробки оставляли при комнатной температуре. Целью создания этих парафиновых блоков является получение очень тонких срезов. Затем для создания тонких срезов (4-6 мкм) использовался микротомный аппарат. Срезы, вырезанные в виде ленты, аккуратно помещали в горячие ванны. В горячей воде парафин растворялся в кусочках, устанавливали в вертикальном положении на 37 градусов на несколько часов, с целью утечки избыточного парафина, чтобы он хорошо адгезировался к стеклу.

Полученные результаты подробно записывали в журнал записей результатов в ходе эксперимента.

Срезы исследовали с помощью окуляр-микрометра DN-107T/ Модель NLCD-307B (Novel, Китай).

### **Методика окраски гематоксилин-эозином.**

Для морфологической оценки гистологических препаратов применялась стандартная методика окраски гематоксилин-эозином (H&E), позволяющая дифференцировать клеточные и тканевые структуры на световом микроскопе. Ядра клеток при этом окрашиваются в синий или фиолетовый цвет (гематоксилин), а цитоплазма и внеклеточный матрикс — в розовый (эозин).

Парафиновые срезы толщиной 3–5 мкм подвергались депарафинизации в трех сменах ксилола по 5 минут. Затем выполнялась поэтапная регидратация: срезы последовательно помещались в 100%, 96% и 70% этанол (по 2 минуты в каждом) и промывались в проточной воде в течение 2 минут.

Окрашивание проводили в растворе гематоксилина Майера (или Эрлиха) в течение 5–10 минут в зависимости от интенсивности раствора. После этого срезы промывали в проточной воде и, при необходимости, кратковременно дифференцировали в 0,3–1% растворе соляной кислоты в спирте, а затем повторно промывали. Для закрепления окраски ядер выполнялось синивание в слабощелочной воде (например, аммиачной) в течение 30–60 секунд с последующим промыванием.

Затем производилось окрашивание эозином Y в течение 1–2 минут. Избыток красителя удаляли кратковременным промыванием в 96% этаноле. Далее проводилось обезвоживание через 96% и 100% этанол (по 1–2 минуты), просветление в двух сменах ксилола (по 3 минуты), после чего препараты заключались в синтетическую или натуральную среду под покровное стекло.

В результате окраски ядра клеток приобретали синий или фиолетовый оттенок, цитоплазма — розовый, коллагеновые волокна — бледно-розовый, а эритроциты — ярко-розовый или оранжевый. Данная методика позволяла эффективно визуализировать морфологические особенности тканей и клеток, что имело решающее значение для гистологической диагностики.

Техника окраски:

1. Из воды детали переносят в окрасочный раствор. Полностью созревшая краска дает хороший результат за 2-3 минуты. Продолжительность окраски может достигать 16-20 минут.

2. Чтобы приступить к покраске, нам необходимо определить время покраски и далее необходимо строго придерживаться указанного времени. Если краситель зрелый, то для хорошего окрашивания ядер потребуется более 5-6 минут.

3. Гематоксилин переносят в кусочек дистиллированной воды и наблюдают на стеклянном окне при небольшом увеличении микроскопа. В случае успешного окрашивания ядра клеток будут иметь красноватый, красно-фиолетовый цвет, в котором хорошо видны фрагменты ядра и хроматина. Если ядра имеют слабую пурпурную окраску и структуры в них нечетко видны, продолжительность окрашивания следует увеличить. Если ядра окрашены в черный цвет, внутренние структуры не видны, а цитоплазма клетки имеет красно-фиолетовый цвет, время окраски следует сократить.

4. Если гематоксилин окрашивает срезы слишком быстро, то окрашенный цвет ослабнет и, следовательно, нужно будет снова прокрасивать или намеренно перекрашивать. Для ослабления окраски кусочки из воды переносят на несколько секунд в слабый 70% спиртовой раствор соляной кислоты.

5. В растворе гематоксилина и хлороводорода в спирте срезы переносят в дистиллированную воду на несколько минут.

6. После этого промывают в слабощелочной воде. Через 30 секунд в такой слабощелочной воде она синее. После этого кусочки промывают в проточной воде в течение 10-15 минут (до синего цвета).

7. В результате промывания кусочков в проточной воде цвет ядер окрашивается в насыщенный синий цвет.

8. Окрашенные гематоксилином и промытые проточной водой срезы переносят в дистиллированную воду на 3-4 минуты. Для окраски цитоплазмы клеток срезы переносят в раствор эозина на 1-2 минуты. Здесь время обработки фрагментов также зависит от самого объекта, фиксации и т. д. Препарат имеет желтовато-розовый цвет при хорошей окраске. Если препарат имеет бледно-розовый или желтоватый цвет, время окрашивания следует увеличить. Если эозин не сильно окрашивает срезы, его можно подкислить уксусной кислотой (к 100 мл раствора эозина добавляют 1 каплю 3% уксусной кислоты). Если краситель долго остается в красителе, общий фон

будет красный, и ядра будет трудно отделить. В таких случаях время окрашивания следует сократить или промыть проточной водой.

9. Срезы из раствора эозина переносят в дистиллированную воду на 1 минуту (при более сильном окрашивании промывают до получения достаточной окраски) и обезвоживают в спиртовом растворе, помещают в раствор карболовой кислоты и наносят канадский бальзам.

### **Методы морфометрического исследования**

При измерении морфометрических показателей было обращено внимание на структурную единицу лимфатических узлов. Полученные измерения были изучены с помощью окуляр-микрометрической MOV-1, 15 х, линейки объекта, точечной сетки окуляра, окуляра на поверхности сечения стандарта (0,074 мм<sup>2</sup>) и QuPath-0.4.0.ink. проведены морфометрические исследования.

В нашей исследовательской работе были выбраны следующие показатели лимфатических узлов:

- толщина капсулы (мкм);
- толщина паракортикальной зоны (мкм);
- диаметр трабекул (мкм);
- толщина кортикальной зоны (мкм);
- толщина мозговой зоны (мкм);
- площадь лимфоидного фолликула (мкм);
- толщина герминативного центра (мкм);
- площадь мозгового и краевого синусов (мкм).

С помощью этих показателей были изучены микропрепараты, полученные от белых беспородных крыс контрольной группы, экспериментальной группы до фитокоррекции и экспериментальной группы после фитокоррекции.

## **Методы иммуногистохимического исследования**

В данном исследовании для анализа морфологических изменений, происходящих в ткани подмышечных и шейных лимфатических узлов в условиях экспериментального фиброза легких, с использованием иммуногистохимического (ИГХ) метода был выбран маркер Bcl-2, который обеспечивает блокировку белков, усиливающих этот процесс апоптоза.

Для оценки морфофункциональных изменений, происходящих в ткани подмышечных и шейных лимфатических узлов при экспериментальном фиброзе легких, применяли иммуногистохимический (ИГХ) метод исследования с использованием маркера Bcl-2. Выбор данного маркера обусловлен его ключевой ролью в регуляции процессов программируемой клеточной гибели (апоптоза). Белок Bcl-2 относится к семейству антиапоптотических белков и способствует сохранению жизнеспособности клеток путем ингибирования митохондриального пути апоптоза, предотвращая активацию каспазного каскада и блокируя действие проапоптотических факторов.

После фиксации исследуемого материала в 10% нейтральном забуференном формалине и стандартной гистологической проводки образцы лимфатических узлов заливали в парафин. Из полученных парафиновых блоков изготавливали серийные срезы толщиной 4–5 мкм, которые наносили на предметные стекла с адгезивным покрытием. После депарафинизации и регидратации проводили демаскировку антигенов методом термической обработки в цитратном буфере (pH 6,0).

Для выявления экспрессии белка Bcl-2 срезы инкубировали с первичными моноклональными антителами против Bcl-2 в соответствии с рекомендациями производителя. Визуализацию иммунной реакции осуществляли с использованием системы детекции на основе пероксидазы хрена и хромогена диаминобензидина (DAB), обеспечивающего образование коричневого окрашивания в местах локализации исследуемого антигена. Для контрастного окрашивания ядер применяли гематоксилин Майера.

Микроскопическое исследование препаратов проводили с использованием светового микроскопа при различных увеличениях. Оценивали интенсивность иммуногистохимической реакции, характер распределения Bcl-2-позитивных клеток и их локализацию в структурно-функциональных зонах лимфатических узлов, включая лимфоидные фолликулы, паракортикальную область и мозговые тяжи. Особое внимание уделяли сравнительному анализу экспрессии Bcl-2 в контрольной и экспериментальной группах животных.

Полученные данные позволяли судить об изменении активности антиапоптотических механизмов в лимфатических узлах при развитии экспериментального фиброза легких, а также оценить степень вовлеченности иммунокомпетентных клеток в процессы адаптации и структурной перестройки лимфоидной ткани в условиях хронического патологического процесса.

Для изучения особенностей структурно-функциональной перестройки подмышечных и шейных лимфатических узлов в условиях экспериментального фиброза легких было проведено иммуногистохимическое исследование с использованием маркера Bcl-2. Данный белок является одним из ключевых регуляторов апоптоза и относится к группе антиапоптотических факторов, обеспечивающих выживание клеток путем ингибирования митохондриального пути программируемой клеточной гибели. Экспрессия Bcl-2 позволяет оценить интенсивность антиапоптотических процессов в различных популяциях иммунокомпетентных клеток лимфатических узлов и выявить особенности их адаптационных реакций в ответ на длительное воздействие патологического процесса, вызванного развитием фиброза легочной ткани.

Материалом для иммуногистохимического исследования служили подмышечные и шейные лимфатические узлы экспериментальных животных контрольной и опытной групп. После извлечения лимфатические узлы фиксировали в 10%-ном нейтральном забуференном формалине в течение

24–48 часов. Фиксация обеспечивала сохранение морфологической структуры тканей и предотвращала процессы аутолиза. Затем материал подвергали стандартной гистологической обработке, включающей дегидратацию в спиртах возрастающей концентрации, просветление в ксилоле и заливку в парафиновые блоки.

Из парафиновых блоков на ротационном микротоме изготавливали серийные срезы толщиной 4–5 мкм. Полученные срезы переносили на предметные стекла с адгезивным покрытием, обеспечивающим надежную фиксацию ткани в процессе последующих этапов окрашивания. Перед проведением иммуногистохимической реакции срезы подвергали депарафинизации в ксилоле и регидратации через батарею спиртов нисходящей концентрации до дистиллированной воды.

Для восстановления антигенной активности тканей проводили процедуру демаскировки антигенов (antigen retrieval). С этой целью препараты помещали в цитратный буфер с pH 6,0 и подвергали термической обработке в водяной бане или микроволновой печи при температуре 95–98 °C в течение 20–30 минут. После охлаждения препараты промывали в фосфатно-солевом буфере (PBS).

С целью предотвращения неспецифического окрашивания блокировали эндогенную активность пероксидазы путем обработки препаратов раствором перекиси водорода. Дополнительно осуществляли блокирование неспецифических участков связывания белков с использованием специального блокирующего раствора, что позволяло повысить специфичность иммуногистохимической реакции.

Далее препараты инкубировали с первичными моноклональными антителами против белка Bcl-2. Продолжительность инкубации и рабочее разведение антител подбирали в соответствии с рекомендациями производителя. В результате специфического взаимодействия антител с антигеном происходило связывание антител с клетками, экспрессирующими белок Bcl-2.

Для визуализации иммуногистохимической реакции использовали полимерную систему детекции на основе пероксидазы хрена. В качестве хромогена применяли 3,3'-диаминобензидин (DAB), который при взаимодействии с ферментом образовывал нерастворимый коричневый продукт реакции в местах локализации исследуемого белка. После завершения иммуногистохимической реакции препараты дополнительно окрашивали гематоксилином Майера для контрастного выявления клеточных ядер, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, просветляли в ксилоле и заключали под покровное стекло.

Микроскопический анализ проводили с использованием светового микроскопа при увеличениях  $\times 100$ ,  $\times 200$  и  $\times 400$ . При исследовании учитывали локализацию Vcl-2-позитивных клеток в различных структурно-функциональных зонах лимфатических узлов: корковом веществе, лимфоидных фолликулах, герминативных центрах, паракортикальной зоне, мозговых тяжах и синусах. Оценивали интенсивность окрашивания, количество иммунопозитивных клеток, характер их распределения и степень выраженности экспрессии белка Vcl-2.

Полуколичественную оценку иммуногистохимической реакции проводили путем подсчета Vcl-2-позитивных клеток в нескольких стандартных полях зрения при большом увеличении микроскопа. Полученные результаты выражали в процентах от общего числа клеток исследуемой зоны лимфатического узла. Интенсивность окрашивания классифицировали как слабую (+), умеренную (++) и выраженную (+++). Для повышения объективности исследования анализ препаратов осуществляли в нескольких случайно выбранных полях зрения каждого среза с последующим вычислением среднего значения показателей.

Полученные данные использовали для сравнительного анализа уровня экспрессии Vcl-2 в лимфатических узлах животных контрольной и экспериментальной групп. Изменение экспрессии данного маркера рассматривали как показатель активности антиапоптотических процессов и

адаптационно-компенсаторных реакций иммунной системы в условиях хронического воспаления и фиброзной трансформации легочной ткани. Анализ экспрессии V $\alpha$ 1-2 позволял выявить особенности регуляции клеточной гибели и выживания лимфоцитов, определить степень вовлеченности лимфатических узлов в патологический процесс и оценить их роль в поддержании иммунного гомеостаза при экспериментальном фиброзе легких.

### **Методы статистического анализа**

Все полученные данные исследования подвергались статистической обработке на персональном компьютере с использованием программных пакетов Microsoft Office Excel – 2016 и IBM SPSS Statistic 20 на базе Windows 10 Pro. Использовали вариационные параметрические и непараметрические методы статистики: рассчитывали среднее арифметическое (M), стандартное квадратическое отклонение (s), стандартную ошибку среднего (m) и относительные значения (частоту, %). При сравнении средних значений рассчитывали критерий Стьюдента (t) и критерий Ф-Фишера с вероятностью ошибки (p) с нормальным распределением.

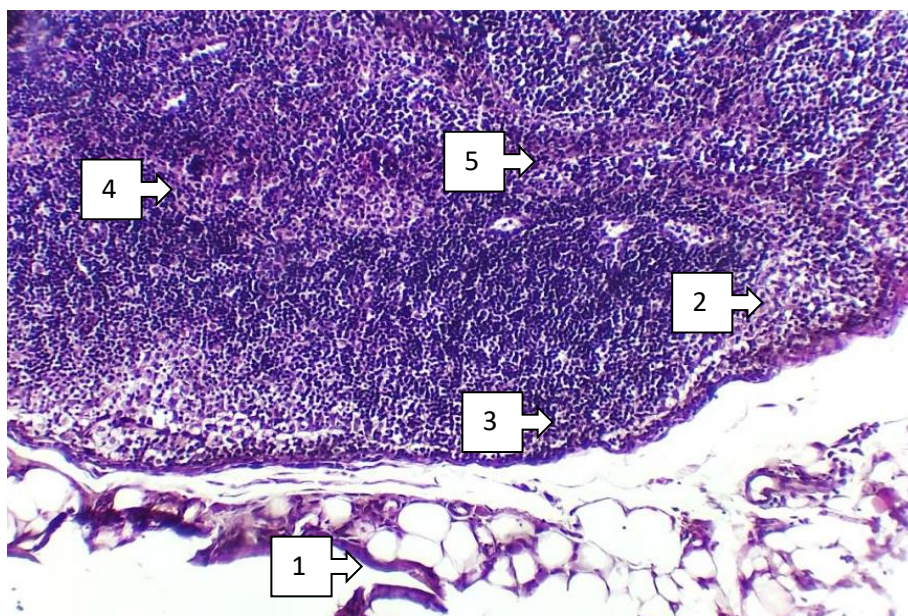
Для оценки статистической достоверности рассчитанных критериев использовались показатели и таблицы критических значений допустимых уровней значимости (p). Для статистически значимых изменений были приняты четыре основных уровня значимости: высокий -  $p < 0,001$ , средний -  $p < 0,01$ , низкий (пограничный) -  $p < 0,05$ , недостоверный (неопределенный) -  $p > 0,05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ВОЗРАСТНЫХ МОРФОЛОГИИ РЕГИОНАРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ В НОРМЕ И ИХ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ФИБРОЗЕ ЛЁГКИХ**

### **Морфологическая и морфометрическая характеристика подмышечных лимфатических узлов крыс контрольной группы в возрастном аспекте**

Проведенное исследование показало, что толщина капсулы подмышечных узлов у **6-ти месячных крыс** имели размеры от 5,7 мкм до 6,5 мкм, в среднем  $6,1 \pm 0,08$  мкм, толщина паракортикальной зоны составляла от 107,2 мкм до 295,5 мкм, в среднем –  $181,08 \pm 9,84$  мкм, диаметр трабекул составлял от 29,8 мкм до 96,3 мкм, в среднем –  $63,3 \pm 3,59$  мкм, толщина коркового вещества имела размеры от 196,7 мкм до 492,2 мкм, в среднем –  $317,51 \pm 17$  мкм, толщина мозгового вещества варьировала от 201,7 мкм до 527,6 мкм, в среднем –  $324,69 \pm 16,18$  мкм. Мозговые синусы имеют площадь от 14,2 мкм до 19,1 мкм, в среднем  $16,18 \pm 0,47$  мкм, а площадь краевого синуса – от 3,9 мкм до 4,6 мкм, в среднем  $4,25 \pm 0,073$  мкм.

От капсулы трабекулы распространяются в лимфатический узел, внутри лимфатического узла они анастомозируют друг с другом и соединяются со стромой ретикулярной ткани как в корковом, так и в мозговом веществе. Лимфоидные фолликулы чётко визуализируется, размеры составляли от 115,3 мкм до 327,7 мкм, в среднем –  $221,6 \pm 14,44$  мкм. В таких лимфатических узлах синусы в периферическом и мозговом слоях занимают большое пространство. Лишь у их края выделяется паракортикальная область, в которой определяются лимфоциты (Рис.1).



**Рис. 1.** Подмышечный лимфатический узел 6-ти месячных крыс группы контроля. Определяются жировые клетки по периметру лимфатического узла (1), краевые синусы (2), лимфоидные фолликулы (3) и мозговые синусы в области мозгового вещества (4), трабекулы (5). Окраска гематоксилин-эозином. Ок.10хОб.20.

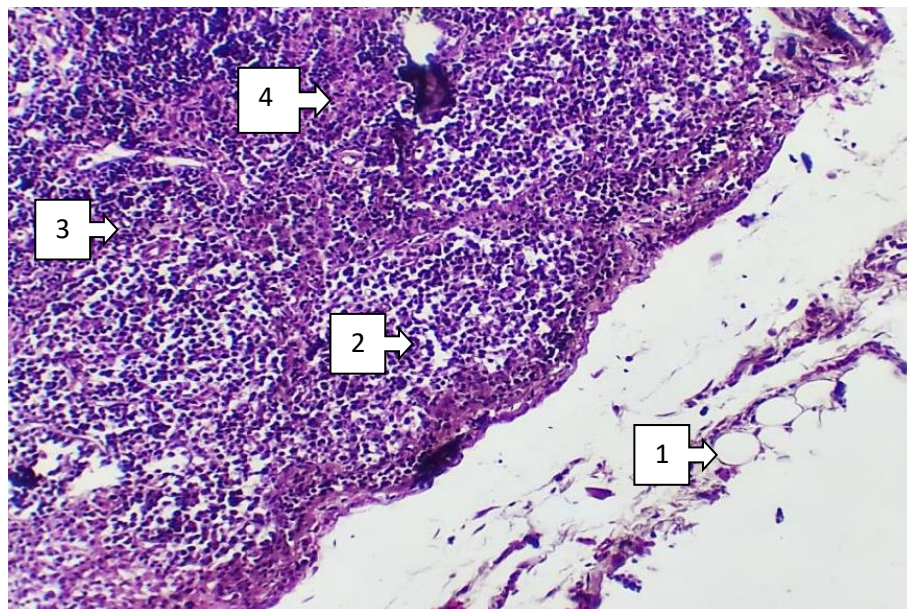
Корковый слой считается В-лимфоцитарной областью, в его строме дендритные и типичные ретикулярные клетки с ретикулярными волокнами образуют сеть. Макрофаги обнаруживаются также в строме ретикулярной ткани лимфатических узлов. Типичные дендритные макрофаги преимущественно располагаются в В-зоне, а лимфоциты образуют скопления вокруг этих макрофагов. В лимфатических узлах между слоями коркового и мозгового слоя имеется паракортикальная область, называемая паракортикальной зоной, а лимфоциты разбросаны на разных уровнях

В группе контроля у **9-ти месячных крыс** установлено, что толщина капсулы подмышечных узлов имела размеры от 6,5 мкм до 7,1 мкм, в среднем  $6,8 \pm 0,07$  мкм, в отличие от 6-ти месячных крыс темп прироста составил 11,4%, что больше почти в 1,5 раза ( $p < 0,01$ ). Толщина паракортикальной зоны варьировала от 117,3 мкм до 315,4 мкм, в среднем –  $191,35 \pm 9,5$  мкм, диаметр трабекул составлял от 39,5 мкм до 104,6 мкм, в среднем –  $63,82 \pm 4,01$  мкм, статистически равен показателям у 6-ти месячных крыс, а толщина коркового вещества имела размеры от 201,3 мкм до 511,4 мкм, в среднем –  $324,9 \pm 11,67$

мкм. Толщина мозгового вещества была в пределах от 216,6 мкм до 547,8 мкм, в среднем –  $340,87 \pm 18,13$  мкм.

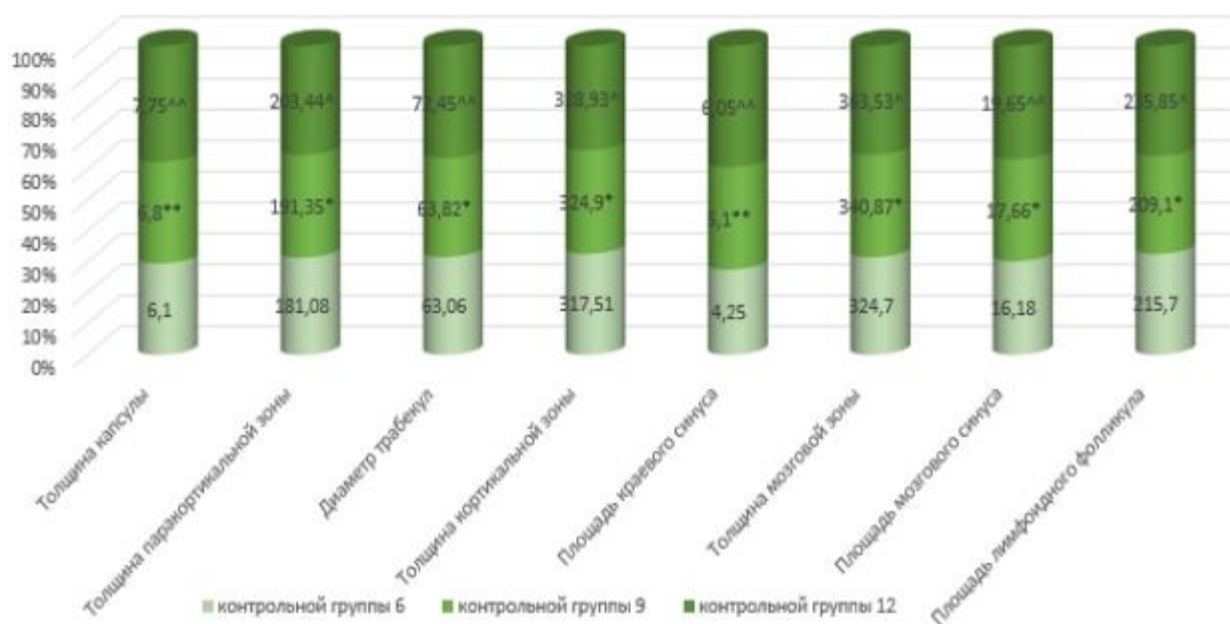
Мозговые синусы имели площадь от 16,2 мкм до 20,1 мкм, в среднем  $17,66 \pm 0,34$  мкм, темп прироста – 10,9%, что в 1,09 раз больше, чем у 6-ти месячных крыс ( $p < 0,01$ ), а площадь краевого синуса – от 4,3 мкм до 5,9 мкм, в среднем  $5,1 \pm 0,17$  мкм, что показывает более высокий показатель на 12%, в отличие от показателя у 6-ти месячных крыс ( $p < 0,001$ ). Площадь лимфоидного фолликула находилась в пределах от 101,7 мкм до 316,5 мкм, в среднем –  $215,7 \pm 11,95$  мкм, что говорит об уменьшении в 1,02 раза в отличие от 6-ти месячных крыс.

С помощью макрофагов с дендритами, лимфоциты подвергаются реакции плазматизации и превращаются в плазматические клетки. Лимфатические сосуды выходят из тканей к наружной поверхности лимфатического узла и впадают через капсулу в периферический синус. Периферический синус является краевым синусом. Этот синус окружает всю паренхиму лимфатического узла и обрывается только в области трабекул (Рис. 2).



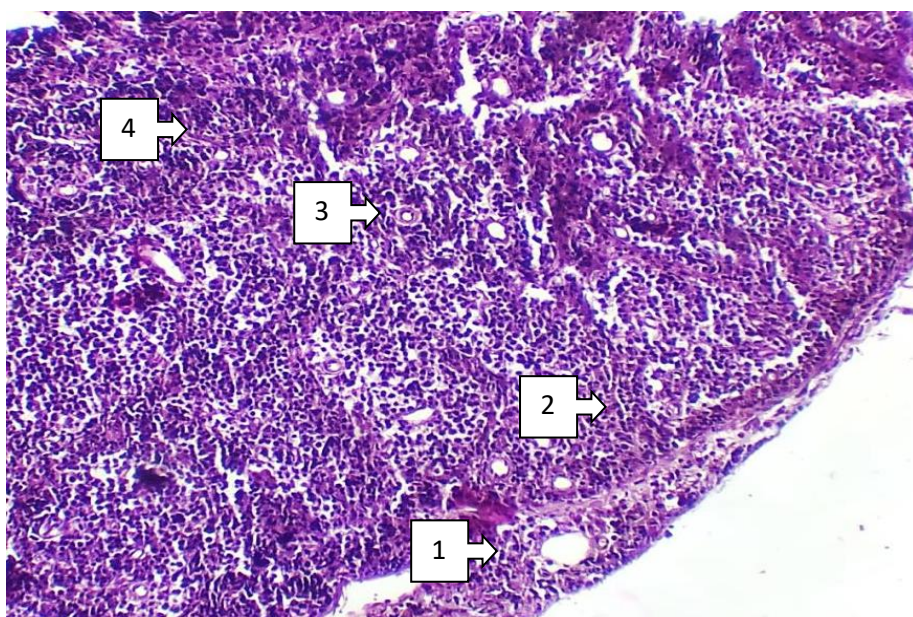
**Рис. 2.** Подмышечный узел 9-ти месячных крыс группы контроля. Определяются жировые клетки по периметру лимфатического узла (1), герминативный центр узла (2), мякотные тяжи (3) и синусы в области мякотных тяжей (4). Окраска гематоксилин-эозином. Ок.10хоб.20.

У контрольных крыс **12-ти месячного возраста** толщина капсулы подмышечных узлов крыс имели размеры от 7,4 мкм до 8,1 мкм, в среднем  $7,75 \pm 0,09$  мкм, определено увеличение на 12,7%, то есть в 1,2 раз, чем у 6-ти месячных крыс, а при сравнении с 9-ти месячными крысами темп прироста составил только 11,3% ( $p < 0,001$ ). Толщина паракортикальной зоны составляла от 124,6 мкм до 333,1 мкм, в среднем –  $203,44 \pm 9,21$  мкм, диаметр трабекул составлял от 47,2 мкм до 109,6 мкм, в среднем –  $72,45 \pm 3,26$  мкм, толщина коркового вещества имел размеры от 216,9 мкм до 531,1 мкм, в среднем –  $328,93 \pm 13,9$  мкм, толщина мозгового вещества составляла от 239,2 мкм до 553,8 мкм, в среднем –  $363,53 \pm 15,7$  мкм. Мозговые синусы имели площадь от 17,2 мкм до 22,1 мкм, в среднем  $19,65 \pm 0,39$  мкм, что на 12,1% больше, чем у 6-ти месячных крыс и на 11,1% больше, чем у 9-ти месячных крыс ( $p < 0,001$ ), а площадь краевого синуса – от 5,5 мкм до 6,6 мкм, в среднем  $6,05 \pm 0,19$  мкм, что на 14,2% больше, чем у 6-ти месячных крыс и на 11,8% больше, чем у 9-ти месячных крыс ( $p < 0,001$ ). При этом площадь лимфоидного фолликула составляла от 129,8 мкм до 341,9 мкм, в среднем  $209,1 \pm 11,68$  мкм, отмечено незначительное увеличение в соответствии с возрастом. Полностью все показатели указаны на рис. 3.



### **Рисунок 3. Сравнительная характеристика морфометрических параметров подмышечных лимфатических узлов контрольной группы в зависимости от возраста крыс**

Вторичные лимфоидные фолликулы в гистологических препаратах состоят из центра пролиферации светлоокрашенных клеток и скопления лимфоцитов с темноокрашенной коронкой вокруг него. В нашем материале в ряде случаев наблюдалось появление вторичных лимфоидных фолликулов в лимфатических узлах у белых беспородных крыс контрольной группы (Рис. 4).



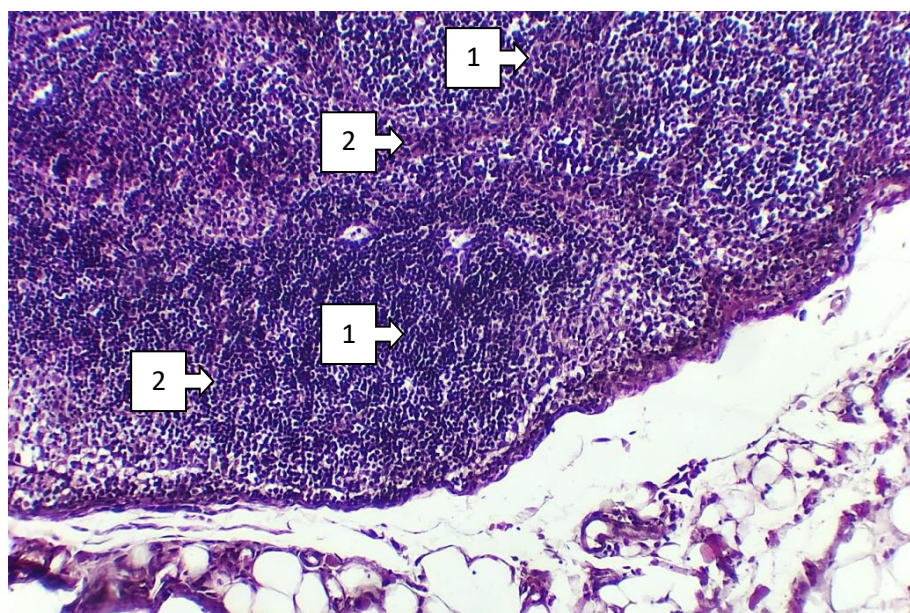
**Рис.3.1.4. Подмышечный лимфатический узел 12-ти месячных крыс группы контроля. Определяются парааортальная зона лимфатического узла (1), лимфоидный фолликул с четкими границами (2), корковое вещество (3) и мозговое вещество (4). Окраска гематоксилин-эозином. Ок.10, об.20.**

Установлено, что интенсивно пролиферирующие В-лимфоциты, лимфобласты, макрофаги, дендритные клетки и лимфоциты располагаются в центре репродукции клеток, то есть в герминативном центре.

#### **Морфологическая и морфометрическая характеристика шейных лимфатических узлов крыс контрольной группы в возрастном аспекте**

Шейные лимфатические узлы топографически лежат в глубоких областях шеи. Это самые маленькие по размерам узлы из всех исследуемых узлов в условиях физиологической нормы. Исследование показало, что

толщина капсулы шейных лимфатических узлов у **6-ти месячных крыс** имели размеры от 4,9 мкм до 5,5 мкм, в среднем  $5,2\pm 0,05$  мкм, толщина паракортикальной зоны составляла от 91,4 мкм до 275,7 мкм, в среднем –  $173,53\pm 12,97$  мкм, диаметр трабекул составлял от 31,4 мкм до 102,6 мкм, в среднем –  $67,0\pm 5,5$  мкм. Кортиковое вещество содержало лимфатические фолликулы, распределенные равномерно, толщина коркового вещества имела размеры от 196,6 мкм до 344,4 мкм, в среднем –  $259,53\pm 17,28$  мкм. Мякотные тяжи мозгового вещества были с высокой клеточной плотностью, представленной лимфоцитами, эритроцитами, макрофагами, ретикулоцитами. Толщина мозгового вещества составляла от 201,7 мкм до 522,5 мкм, в среднем –  $312,1\pm 18,72$  мкм. Мантийный слой в норме. Мозговые синусы имели площадь от 9,6 мкм до 11,2 мкм, в среднем  $10,43\pm 0,13$  мкм, а площадь краевого синуса – от 2,2 мкм до 4,8 мкм, в среднем  $3,5\pm 0,14$  мкм. Площадь лимфоидного фолликула составляла от 105,9 мкм до 300,4 мкм, в среднем  $223,13\pm 20,05$  мкм. Первичные лимфоидные фолликулы состояли из равномерно распределенных лимфоцитов (Рис. 5.).



**Рис. 5. Шейный лимфатический узел 6-ти месячной крысы группы контроля. Герминативный центр чётко визуализируется (1), мозговой синус проходит по периферии лимфоидных фолликулов (2). Окраска гематоксилин-эозином. Ок.10, об.20.**

По результатам нашего исследования толщина капсулы шейных лимфатических узлов у **9-ти месячных крыс** имели размеры от 5,9 мкм до 6,3 мкм, в среднем  $6,1 \pm 0,04$  мкм, темп прироста в отличие от 6-ти месячных крыс в 1,17 раз, то есть на 11,7% ( $p < 0,001$ ); толщина паракортикальной зоны составляла от 99,2 мкм до 306,9 мкм, в среднем –  $184,7 \pm 17,08$  мкм, диаметр трабекул составлял от 41,7 мкм до 104,3 мкм, в среднем –  $73 \pm 4,92$  мкм, толщина коркового вещества имела размеры от 201,6 мкм до 511,4 мкм, в среднем –  $347,5 \pm 17,73$  мкм, толщина мозгового вещества составляла от 216,5 мкм до 533,6 мкм, в среднем –  $345,43 \pm 16,37$  мкм.

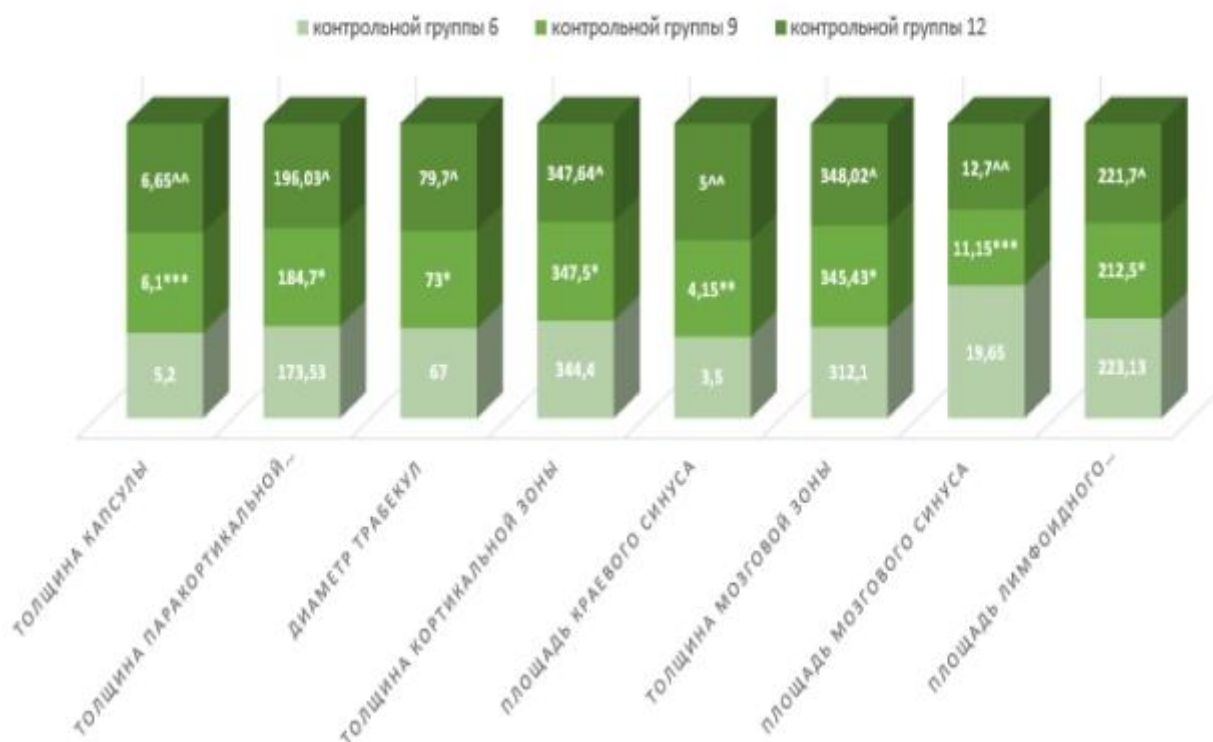
Мозговые синусы имели площадь от 10,6 мкм до 11,7 мкм, в среднем  $11,15 \pm 0,1$  мкм, размеры уменьшились здесь на 10,6% ( $p < 0,01$ ) при сравнении с 6-ти месячными крысами, а площадь краевого синуса – от 3,2 мкм до 5,1 мкм, в среднем  $4,15 \pm 0,15$  мкм. Площадь лимфоидного фолликула составляла от 109,6 мкм до 307,2 мкм, в среднем  $212,5 \pm 14,7$  мкм.

Выявлены первичные лимфоидные фолликулы, более светлая зона, и вторичные, с центральной зоной скопления клеток. Первичные лимфоидные фолликулы состояли из равномерно распределенных лимфоцитов. Корковое вещество содержало лимфатические узелки, распределенные равномерно. Мякотные тяжи мозгового вещества были с высокой клеточной плотностью, представленной лимфоцитами, эритроцитами, макрофагами, ретикулоцитами.

На препаратах отчетливо выделялись корковый слой, паракортикальная зона и мозговой слой. В корковом плато обнаруживались вторичные лимфоидные фолликулы со светлым центром.

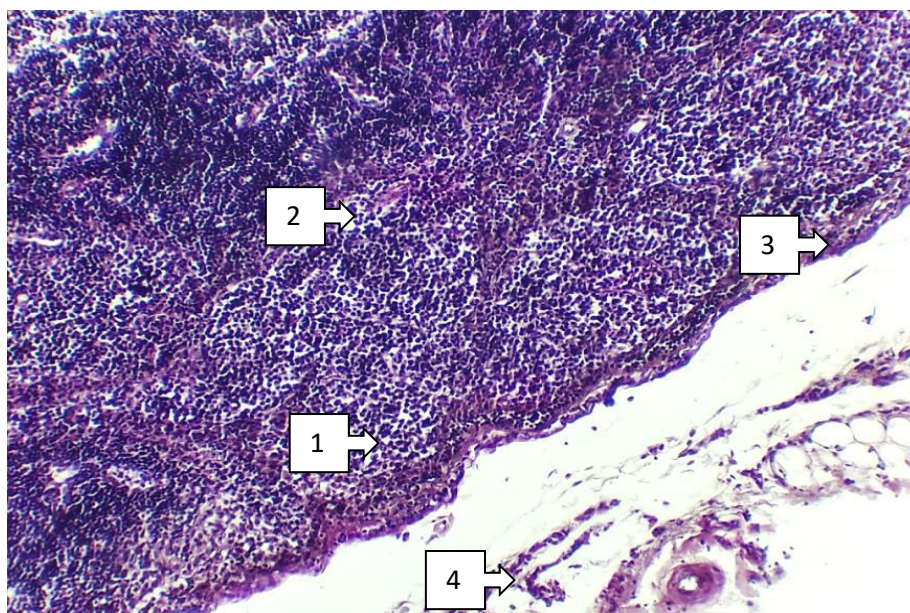
Установлено, что толщина капсулы шейных лимфатических узлов у **12 месячных крыс** имела размеры от 6,1 мкм до 7,2 мкм, в среднем  $6,65 \pm 0,09$  мкм, темп прироста в отличие от 6-ти месячных крыс в 1,2 раз, то есть на 12,7% и на 10,9% при сравнении с 9-ти месячными крысами той же группы ( $p < 0,001$ ), толщина паракортикальной зоны составляла от 107,7 мкм до 315,4 мкм, в среднем –  $196,03 \pm 14,78$  мкм, диаметр трабекул составлял от 46,6 мкм

до 112,8 мкм, в среднем –  $77,38 \pm 4,79$  мкм, толщина коркового вещества имела размеры от 216,8 мкм до 531,5 мкм, в среднем –  $347,64 \pm 15,52$  мкм, толщина мозгового вещества составлял от 224,3 мкм до 541,8 мкм, в среднем –  $348,02 \pm 17,95$  мкм. Просветы сосудов были несвободные. Наиболее крупные сосуды были расположены ближе к воротам узла. В кортикальной и паракортикальной зонах васкулярный рисунок был беднее. Мозговые синусы имели площадь от 11,3 мкм до 14,1 мкм, в среднем  $12,7 \pm 0,17$  мкм, при сравнении с 6-ти месячными крысами темп прироста составил 12,1% и на 11,3% в отличие от 9-ти месячных ( $p < 0,001$ ), а площадь краевого синуса – от 4,2 мкм до 5,8 мкм, в среднем  $5 \pm 0,11$  мкм, темп прироста в отличие от 6-ти месячных крыс в 1,4 раз, то есть на 14,2% и на 12% при сравнении с 9-ти месячными крысами той же группы ( $p < 0,001$ ). Площадь лимфоидного фолликула составляла от 119,1 мкм до 319,4 мкм, в среднем  $200,3 \pm 15,62$  мкм. Также все показатели можно рассмотреть на рис.6.



**Рисунок 6. Сравнительная характеристика морфометрических параметров шейных лимфатических узлов контрольной группы в зависимости от возраста крыс**

Краевой синус, по которому лимфа идет от тканей к воротам лимфатического узла, окружает всю паренхиму лимфатического узла и обрывается только в области трабекул. По периметру этих трабекул синусы становятся промежуточными синусами. Далее они переходят в мозговые синусы. Признаков стаза и тромбоза не было. Лимфоидные фолликулы чётко просматриваются, без особенностей (Рис. 7.).



**Рис. 7. Шейный лимфатический узел 12-ти месячной крысы группы контроля. Лимфоидный фолликул чётко визуализируется (1), мозговой синус (2), краевой синус (3), капсула лимфатического узла (4). Окраска гематоксилин-эозином. Ок.10, об.20.**

Ретикулоциты определяются во всех возрастных группах контрольной группы и статистически значимых различий не выявлено.

### **Морфологическая и морфометрическая характеристика подмышечных лимфатических узлов крыс при экспериментальном фиброзе легких**

После завершения экспериментального моделирования фиброза легких у **6-ти месячных** белых беспородных крыс в подмышечных лимфатических узлах экспериментальной группы на сроке 90 дней за счет длительного воздействия двуокиси азота на респираторные пути крыс были выявлены следующие изменения: размеры толщины стенки капсулы регионарных лимфатических узлов в норме имели размеры от 5,7 мкм до 6,5 мкм, в среднем  $6,1 \pm 0,08$  мкм, а после окончания эксперимента размеры составили от

9,1-10,8 мкм, в среднем –  $10,6 \pm 0,08$  мкм, что превышает в 1,7 раз, т.е. на 17,3% больше ( $p < 0,001$ ); паракортикальная зона в норме составляла от 107,2 мкм до 295,5 мкм, в среднем –  $181,08 \pm 9,84$  мкм, а после воздействия диоксида азота на респираторные пути подопытных животных размеры составили от 125,3-332,4 мкм, в среднем –  $228,85 \pm 14,5$  мкм; диаметр трабекул в группе контроля были от 29,8 мкм до 96,3 мкм, в среднем –  $63,3 \pm 3,59$  мкм, а тот же показатель в группе эксперимента изменился незначительно от 59,2-129,5 мкм, в среднем показатели были почти равны с предыдущим сроком –  $94,35 \pm 4,93$  мкм, можно увидеть увеличение на 14,9% ( $p < 0,001$ ); площадь краевого синуса в группе контроля составляла от 3,9 мкм до 4,6 мкм, в среднем  $4,25 \pm 0,073$  мкм, а в группе эксперимента размеры были от 6,3 до 8,7 мкм, в среднем  $7,85 \pm 0,17$  мкм, обнаружилось изменение на 18,4% больше ( $p < 0,001$ ); а площадь мозгового синуса в норме при этом имела размеры от 14,2 мкм до 19,1 мкм, в среднем  $16,18 \pm 0,47$  мкм, а после окончания эксперимента от 20,5 мкм до 23,1 мкм, в среднем  $21,8 \pm 0,29$  мкм, увеличение составляет 13,4% ( $p < 0,001$ ); кортикальная зона увеличилась в норме составили от 196,7 мкм до 492,2 мкм, в среднем –  $317,5 \pm 17$  мкм, а в группе эксперимента были от 238,3 мкм до 548,8 мкм, в среднем показатели составили  $393,55 \pm 22,7$  мкм; площадь мозговой зоны у крыс неподверженных воздействию диоксида азота составила от 201,7 мкм до 527,6 мкм, в среднем –  $324,69 \pm 16,18$  мкм, а в группе эксперимента значения были почти одинаковыми и составили от 252,9 мкм до 567,6 мкм, среднее значение составило  $410,25 \pm 27,7$  мкм (См. Табл.1).

Герминативный центр подмышечных лимфоузлов неправильной формы, уменьшен в размерах, которые варьировали от 94,60 мкм до 269,20 мкм, в среднем имели размеры  $167,6 \pm 9,38$  мкм, что на 12,8% меньше, чем у крыс контрольной группы ( $p < 0,001$ ).

Это свидетельствует о развитии патологических изменениях в ткани лимфатического узла и подтверждает активные процессы фиброза, которые могут иметь важные последствия для функционального состояния органов.

Таблица 1

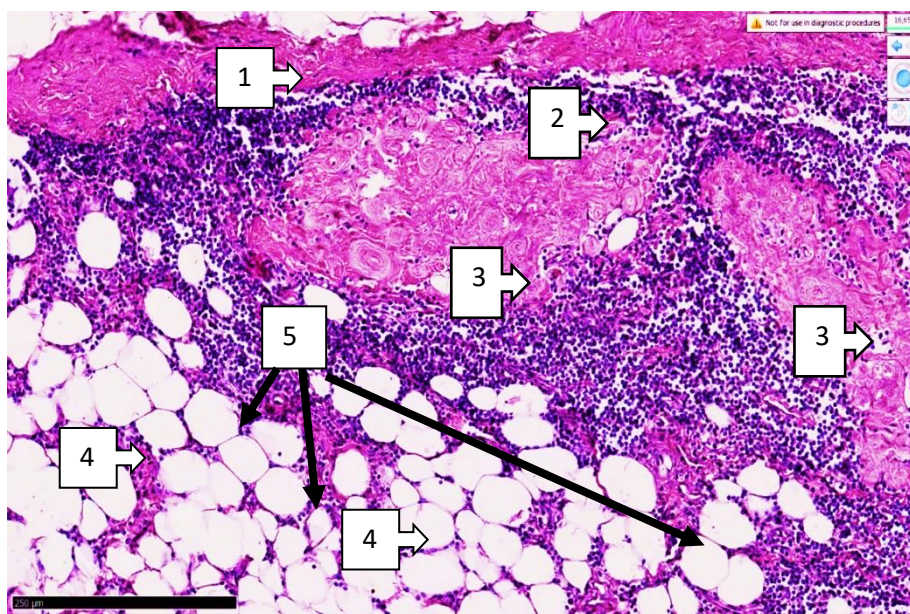
**Сравнительная характеристика подмышечных лимфатических узлов  
контрольной группы и группы эксперимента у 6-ти месячных крыс  
(мкм),  $M \pm m$**

№	Параметры	контрольная группа (n=18)	группа эксперимента (n=20)
1	Толщина капсулы	6,1±0,08	10,6±0,08
2	Толщина паракортикальной зоны	181,08±9,84	228,85±14,5**
3	Диаметр трабекул	63,3±3,59	94,35±4,93
4	Толщина кортикальной зоны	317,5±17	393,55±22,7**
5	Площадь краевого синуса	4,25±0,073	7,85±0,17
6	Толщина мозговой зоны	324,69±16,18	410,25 ±27,7**
7	Площадь мозгового синуса	16,18±0,47	21,8±0,29
8	Площадь лимфоидного фолликула	215,7±11,95	167,6±9,38**

**Примечание:** \*\* $-p < 0,01$ ; достоверность различий в сравнении с предыдущей группой

Субкапсулярные пространства расширены в разной степени по разным периметрам, на внутренней поверхности капсулы лимфатического узла выявляются очаги склероза, отмечается плазматическое набухание. Гиперклеточный вид отчетливо развит в слоях корковой зоны и мозговой зоны, которые являются активными областями лимфатического узла. Субкапсулярная зона с резкими сужениями, без чётких границ. Выявляется диффузное увеличение лимфоидных фолликулов коры лимфатического узла, скопление мелких лимфоцитов в маргинальных ветвях лимфоидных

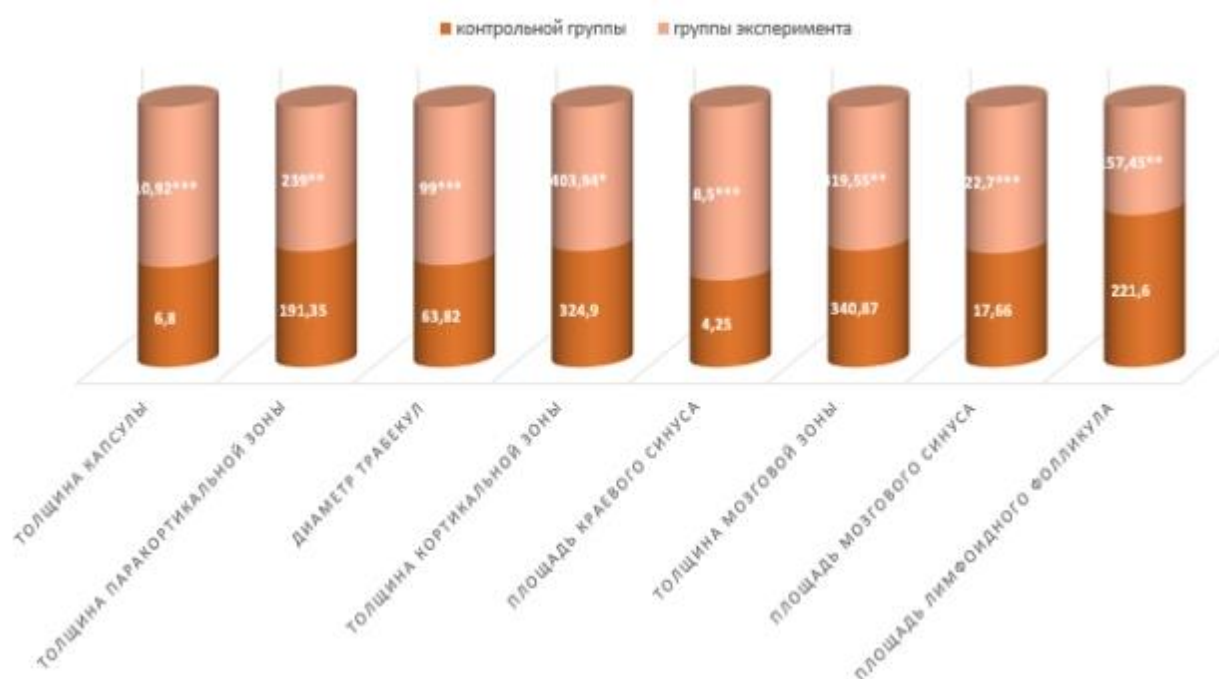
фолликулов. В венах, расположенных в кортикальном слое, наблюдается стаз, в мозговом слое, вокруг медуллярных тяжей, выявляются интерстициальные вздутия и тотальные структуры голой стромы и очаги ретикулеза (Рис. 8.).



**Рис. 8.** Подмышечный лимфатический узел 6-ти месячной крысы группы эксперимента. Фибросклероз фиброзной капсулы (1), субкапсулярные пространства резко сужены, т.е. выявляется плазматическое набухание (2), очаги с грубыми рубцами ткани на месте делимфатизированных фолликулов (3), трансформированные лимфоциты вокруг трабекул, т. е. образование жировой ткани (4), признаки застоя в мозговом слое узла (5). Окраска гематоксилин-эозином. Ок.20, об.10.

После завершения экспериментального моделирования фиброза легких у **9-ти месячных** белых беспородных крыс в подмышечных лимфатических узлах экспериментальной группы на сроке 90 дней были выявлены следующие изменения: толщины стенки капсулы в норме имела размеры от 6,5 мкм до 7,1 мкм, в среднем  $6,8 \pm 0,07$  мкм, а после окончания эксперимента в шейных лимфатических узлах размеры составили от 10,4 мкм до 11,7 мкм, в среднем –  $10,92 \pm 0,1$  мкм, увеличение на 16,1% ( $p < 0,001$ ); паракортикальная зона в норме составила от 144,00 мкм до 358,80 мкм, в среднем имела размеры  $191,35 \pm 9,5$  мкм, а после воздействия диоксида азота на респираторные пути подопытных животных размеры составили от 131,6-346,4 мкм, в среднем –  $239,0 \pm 14,32$  мкм; диаметр трабекул в группе контроля

были от 57,40 мкм до 152,00 мкм, в среднем –  $63,82 \pm 4,01$  мкм, а тот же показатель в группе эксперимента изменился незначительно от 62,3-135,7 мкм, в среднем показатели были почти равны с предыдущим сроком –  $99 \pm 4,65$  мкм, увеличение на 15,5% ( $p < 0,001$ ); площадь краевого синуса в группе контроля составляла в среднем  $5,1 \pm 0,17$  мкм, а в группе эксперимента обнаружилось изменение 7,5-9,1 мкм, в среднем  $8,5 \pm 0,1$  мкм, увеличение на 16,7% ( $p < 0,001$ ); площадь мозгового синуса в норме при этом имела размеры в среднем  $17,66 \pm 0,34$  мкм, а после окончания эксперимента от 21,1 мкм до 24,3 мкм, в среднем –  $22,7 \pm 0,2$  мкм, увеличение на 12,8% ( $p < 0,001$ ); кортикальная зона увеличилась в норме составили от 232,80 мкм до 546,60 мкм, в среднем –  $324,9 \pm 11,67$  мкм, а в группе эксперимента были от 241,5-566,4 мкм, в среднем показатели составили  $403,94 \pm 22,24$  мкм; площадь мозговой зоны у крыс неподверженных воздействию диоксида азота увеличилась в размере и уже составила от 233,80 мкм до 575,00 мкм, в среднем имела размеры  $340,87 \pm 18,13$  мкм, а в группе эксперимента значения были почти одинаковыми и составили от 266,6-572,5 мкм, среднее значение составило  $419,55 \pm 22,15$  мкм. Относительная площадь герминативного центра подмышечных лимфатических узлов после начала воздействия диоксидом азота составляла от 86,2 мкм до 228,7 мкм, в среднем  $157,45 \pm 8,66$  мкм, что на 14,7% меньше, чем в контрольной группе (См. Рис. 9).

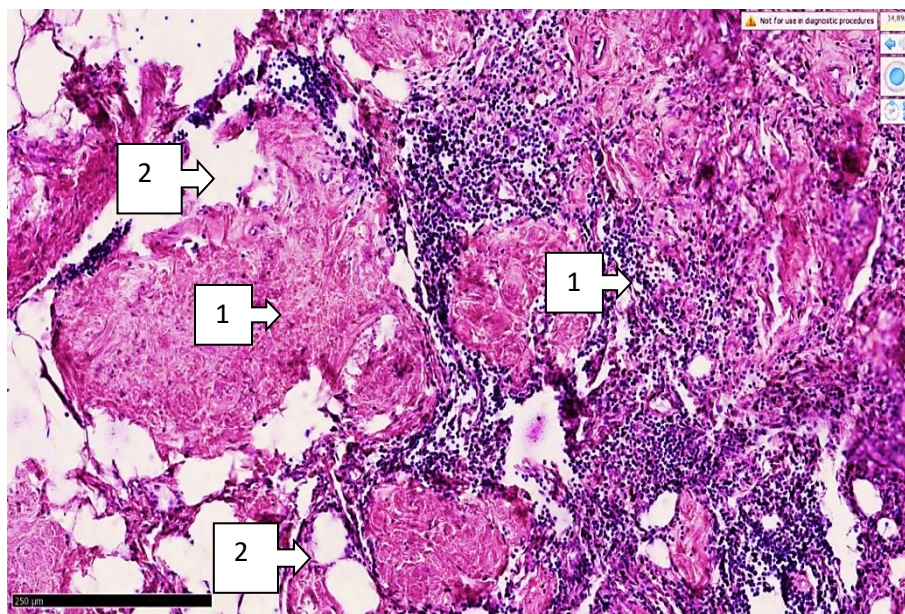


**Рисунок 9. Показатели морфометрических показателей подмышечных лимфатических узлов при сравнении контрольной и экспериментальной группы у 9-ти месячных крыс**

После экспериментально индуцированного фиброза легких у белых беспородных крыс экспериментальной группы в подмышечных лимфатических узлах количество ретикулоцитов достигло 15-17 клеток в поле зрения. Эти результаты свидетельствуют об активации кроветворных процессов и адаптационных реакций организма в ответ на повреждение легочной ткани, что свидетельствует о реакции иммунной системы на произошедшие изменения.

По результатам нашего эксперимента, длительность воздействия фактора, хроническое обнажение альвеолярных стенок с паренхимой легочной ткани и эпителием, входящим в их состав, усиление процессов некробиоза и апоптоза, репаративное возникновение процесса физиологической регенерации, преждевременное восстановление проявляется в форме «замещения», проявляющегося пролиферацией фибробластов в строме альвеолярных стенок и увеличением синтеза тропоколлагена, продолжается с образованием разреженной соединительной ткани. В результате происходит деаэрация альвеолярной полости,

продолжается «ателектаз» с пневмофиброзом и резким нарушением дренирующей функции лимфатических сосудов (Рис.10)



**Рис. 10.** Подмышечный лимфатический узел 9-месячной крысы группы эксперимента. Вместо лимфоидных фолликулов в строме границы коры и медуллярной ветви определяются массивные рубцовые очаги (1), сохранившиеся вокруг них фрагменты лимфоидных фолликулов (2), очаги грубоволокнистой соединительной ткани (2). Окраска гематоксилин-эозином. Ок.40, об.10.

При изучении материалов у **12-ти месячных** белых беспородных крыс в подмышечных лимфатических узлах экспериментальной группы на сроке 90 дней за счет длительного воздействия отравляющего вещества на дыхательные пути крыс были выявлены, что толщина стенки капсулы в группе интактных крыс были размеры от 13,00 мкм до 16,50 мкм, в среднем –  $7,75 \pm 0,09$  мкм, а после окончания эксперимента размеры составили от 12,80 мкм до 16,50 мкм, в среднем –  $11,6 \pm 0,1$  мкм, увеличение на 15% ( $p < 0,001$ ); паракортикальная зона в норме составила от 144,00 мкм до 358,80 мкм, в среднем имела размеры  $203,44 \pm 9,21$  мкм, а после воздействия диоксида азота на респираторные пути подопытных животных размеры составили от 139,7 мкм до 362,9 мкм, в среднем –  $251,3 \pm 14,79$  мкм; диаметр трабекул в группе контроля были от 57,40 мкм до 152,00 мкм, в среднем –  $72,45 \pm 3,26$  мкм, а тот же показатель в группе эксперимента изменился незначительно от 76,9 мкм до 139,1 мкм, в среднем показатели были равны  $108 \pm 3,95$  мкм, увеличение на

14,9% ( $p < 0,001$ ); площадь краевого синуса в группе контроля составляла в среднем  $6,05 \pm 0,19$  мкм, а в группе эксперимента обнаружилось изменение от 7,7 мкм до 10,6 мкм, в среднем  $9,15 \pm 0,2$ , увеличение на 15,1% ( $p < 0,001$ ); площадь мозгового синуса в норме при этом имела размеры в среднем  $19,65 \pm 0,39$  мкм, а после окончания эксперимента от 23,5 мкм до 26,1 мкм, в среднем значении  $24,8 \pm 0,17$  мкм, увеличение на 12,6% ( $p < 0,01$ ); кортикальная зона увеличилась в норме составили от 232,80 мкм до 546,60 мкм, в среднем –  $328,93 \pm 13,9$  мкм, а в группе эксперимента были от 264,3 мкм до 571,1 мкм, в среднем показатели составили  $417,7 \pm 21,31$  мкм; площадь мозговой зоны у крыс неподверженных воздействию диоксида азота увеличилась в размере и уже составила от 233,80 мкм до 575,00 мкм, в среднем имела размеры  $363,53 \pm 15,7$  мкм, а в группе эксперимента значения были почти одинаковыми и составили от 279,7 мкм до 588,7 мкм, среднее значение составило  $434,2 \pm 18,9$  мкм (См. Табл.2).

Относительная площадь герминативного центра подмышечных лимфатических узлов после начала воздействия диоксидом азота составляла от 74,2 мкм до 212,7 мкм, в среднем  $143,45 \pm 10,08$  мкм.

**Таблица 2**

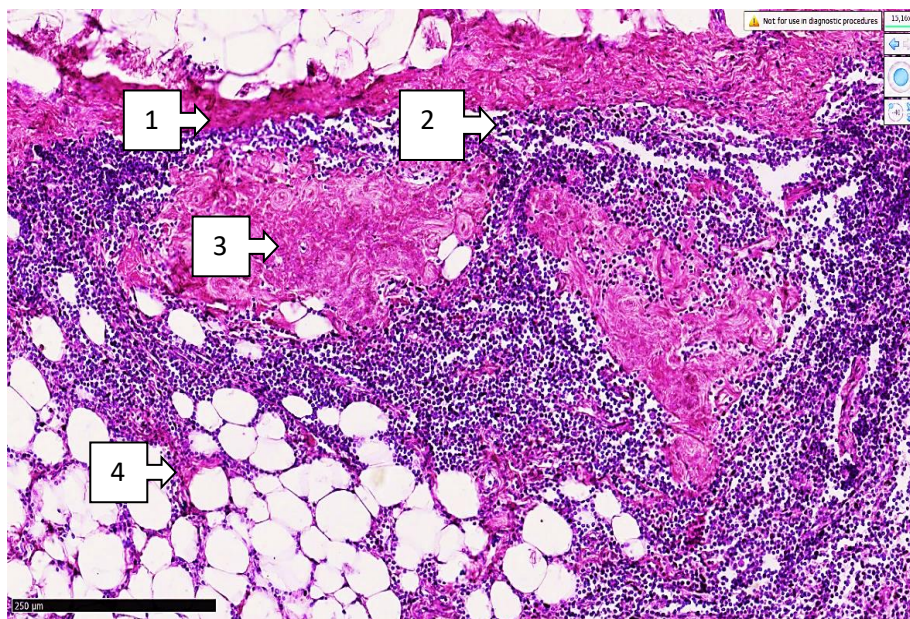
**Сравнительная характеристика подмышечных лимфатических узлов контрольной группы и группы эксперимента у 12-ти месячных крыс (мкм),  $M \pm m$**

№	Параметры	контрольная группа (n=18)	группа эксперимента (n=20)
1	Толщина капсулы	$7,75 \pm 0,09$	$11,6 \pm 0,1$
2	Толщина паракортикальной зоны	$203,44 \pm 9,21$	$251,3 \pm 14,79^{**}$
3	Диаметр трабекул	$72,45 \pm 3,26$	$108 \pm 3,95$
4	Толщина кортикальной зоны	$328,93 \pm 13,9$	$417,7 \pm 21,31$
5	Площадь краевого синуса	$6,05 \pm 0,19$	$9,15 \pm 0,2$

6	Толщина мозговой зоны	363,53±15,7	434,2 ±18,9**
7	Площадь мозгового синуса	19,65±0,39	24,8±0,17
8	Площадь лимфоидного фолликула	235,85±11,68	143,45±10,08

**Примечание:** \*\*- $p < 0,01$ ; достоверность различий в сравнении с предыдущей группой

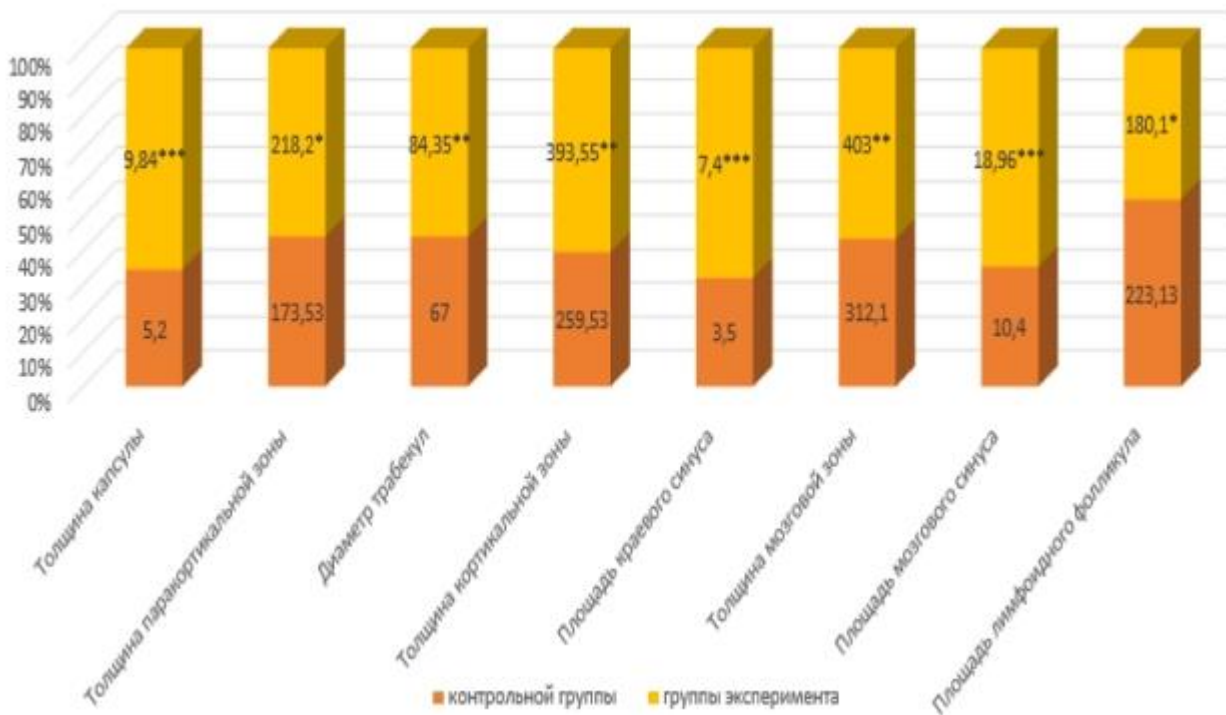
Лимфаретикулез и лимфоидные фолликулы разного размера в регионарных лимфатических узлах являются признаком фиброза и гипоксии в дренирующей области и связаны с динамикой тканевой жидкости, дренируемой из легочной ткани в небольших количествах (Рис. 11.).



**Рис.11.** Подмышечный лимфатический узел 12-ти месячной крысы группы эксперимента. Фибросклероз капсулы (1), подкапсульные пространства резко сужены (2), на месте делимфатизированных фолликулов очаги с грубыми рубцами ткани (3), вокруг трабекул трансформированные лимфоциты, т. е. образование жировой ткани (4). Окраска гематоксилин-эозином. Ок.40, об.10.

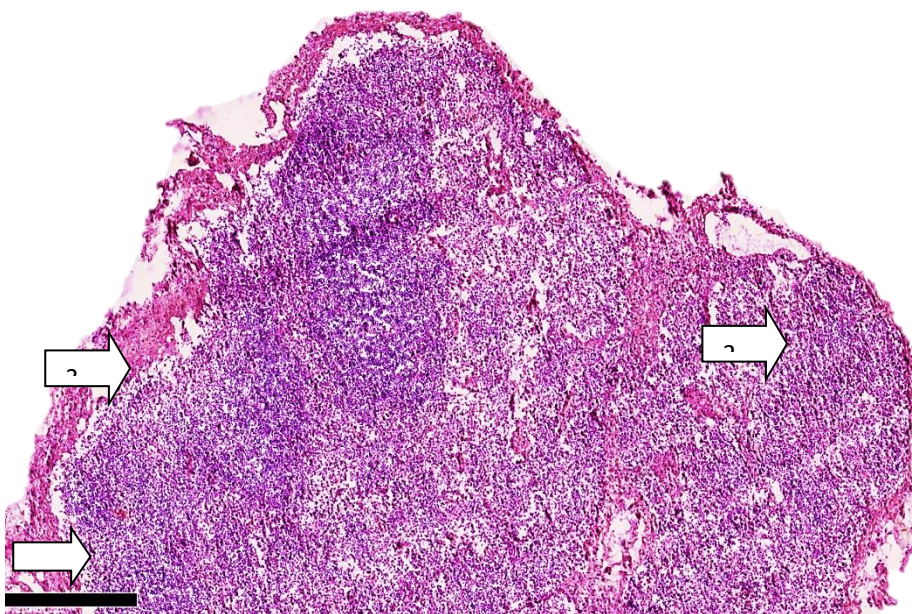
## **Морфологическая и морфометрическая характеристика шейных лимфатических узлов крыс при экспериментальном фиброзе легких**

При рассмотрении шейных лимфатических узлов **6-ти месячных** белых беспородных крыс экспериментальной групп на сроке 90 дней обнаружилось, что толщина стенки капсулы регионарных лимфатических узлов в норме была от 4,9 мкм до 5,5 мкм, в среднем  $5,2 \pm 0,05$  мкм, а после окончания эксперимента размеры составили от 8,1 мкм до 10,3 мкм, в среднем –  $9,84 \pm 0,14$  мкм, увеличение на 18,9% ( $p < 0,001$ ); паракортикальная зона в норме составила от 91,4 мкм до 275,7 мкм, в среднем –  $173,53 \pm 12,97$  мкм, а после воздействия диоксида азота на респираторные пути подопытных животных размеры составили от 115,3 мкм до 321,1 мкм, в среднем –  $218,2 \pm 14$  мкм; диаметр трабекул в группе контроля были от 31,4 мкм до 102,6 мкм, в среднем –  $67,0 \pm 5,5$  мкм, а тот же показатель в группе эксперимента изменился незначительно от 49,2-119,5 мкм, в среднем –  $84,35 \pm 4,75$  мкм; площадь краевого синуса в группе контроля составляла от 2,2 мкм до 4,8 мкм, в среднем  $3,5 \pm 0,14$  мкм, а в группе эксперимента обнаружилось изменение 6,0-7,8 мкм, в среднем  $7,4 \pm 0,1$  мкм, увеличение на 21,1% ( $p < 0,001$ ); площадь мозгового синуса в норме при этом имела размеры от 9,6 мкм до 11,2 мкм, в среднем  $10,43 \pm 0,13$  мкм, а после окончания эксперимента 17,3-20,2 мкм, в среднем  $18,96 \pm 0,23$  мкм, увеличение на 18,1% ( $p < 0,001$ ); кортикальная зона в норме составили от 196,6 мкм до 492,2 мкм, в среднем –  $259,53 \pm 17,28$  мкм, а в группе эксперимента были от 238,3 мкм до 548,8 мкм, в среднем показатели составили  $393,55 \pm 22,7$  мкм, увеличение на 15,1% ( $p < 0,001$ ); площадь мозговой зоны у крыс неподверженных воздействию диоксида азота составила от 233,80 мкм до 575,00 мкм, в среднем имела размеры  $312,1 \pm 18,72$  мкм, а в группе эксперимента значения были почти одинаковыми и составили от 246,3-559,7 мкм, среднее значение составило  $403 \pm 23,6$  мкм (См. Рис.12).



**Рисунок 12. Характеристика морфометрических показателей шейных лимфатических узлов при сравнении контрольной и экспериментальной группы у 6-ти месячных крыс**

Герминативный центр шейных лимфоузлов неправильной формы, уменьшен в размерах, которые варьировали от 91,4 мкм до 268,8 мкм, в среднем имели размеры  $180,1 \pm 10,54$  мкм.



**Рисунок 13. Шейный лимфатический узел 6-месячной крысы группы эксперимента. Лимфоидные фолликулы в корковом веществе не определяются, в стенке трабекулярных структур очаги делимфатизации (1), ретикулоцитоз и склероз**

**(2), капсула лимфатического узла утолщена в разной степени (3). Окраска гематоксилин-эозином. Ок.10хоб.10.**

Лимфатический узел у 6-ти месячных крыс характеризовался наличием лимфоидных фолликулов различной величины в корковом слое, наличием плохо сформированных вторичных лимфоидных фолликулов в герминативной зоне, оголением стромы в этой зоне и уменьшением количества крупных лимфоцитов. Капсула узла в свою очередь была изменена неравномерно, где-то утолщалась и имела неровный контур (Рис.13).

У **9-ти месячных** белых беспородных крыс в шейных лимфатических узлах обнаружено, что толщины стенки капсулы в норме имела размеры от 6,5 мкм до 7,1 мкм, в среднем  $6,1 \pm 0,04$  мкм, а после окончания эксперимента в шейных лимфатических узлах размеры составили от 9,4 мкм до 11,5 мкм, в среднем –  $10,45 \pm 0,14$  мкм, увеличение на 17,1% ( $p < 0,001$ ); паракортикальная зона в норме составила от 144,00 мкм до 358,80 мкм, в среднем имела размеры  $184,7 \pm 17,08$  мкм, а после воздействия диоксида азота на респираторные пути подопытных животных размеры составили от 143,40 мкм до 357,85 мкм, в среднем –  $229,25 \pm 13,7$  мкм; диаметр трабекул в группе контроля были от 57,40 мкм до 152,00 мкм, в среднем –  $73,0 \pm 4,92$  мкм, а тот же показатель в группе эксперимента изменился незначительно от 52,3 мкм до 126,7 мкм, в среднем показатели были почти равны с предыдущим сроком –  $89 \pm 4,25$  мкм; площадь краевого синуса в группе контроля составляла в среднем  $4,15 \pm 0,15$  мкм, а в группе эксперимента обнаружилось изменение от 6,9 мкм до 8,7 мкм, в среднем  $7,8 \pm 0,12$  мкм, увеличение на 18,8% ( $p < 0,001$ ); а площадь мозгового синуса в норме при этом имела размеры в среднем  $11,15 \pm 0,1$  мкм, а после окончания эксперимента от 19,1 мкм до 20,7 мкм, в среднем –  $19,68 \pm 0,12$  мкм, увеличение на 17,6% ( $p < 0,001$ ); кортикальная зона увеличилась в норме составили от 232,80 мкм до 546,60 мкм, в среднем –  $347,5 \pm 17,73$  мкм, а в группе эксперимента были от 241,5 мкм до 566,4 мкм, в

среднем показатели составили  $405,94 \pm 17,76$  мкм; площадь мозговой зоны у крыс неподверженных воздействию диоксида азота были в размере от 233,80 мкм до 575,00 мкм, в среднем имела размеры  $345,43 \pm 16,37$  мкм, а в группе эксперимента значения были от 255,6 мкм до 566,5 мкм, среднее значение составило  $411,05 \pm 21,95$  мкм (См. Табл.3).

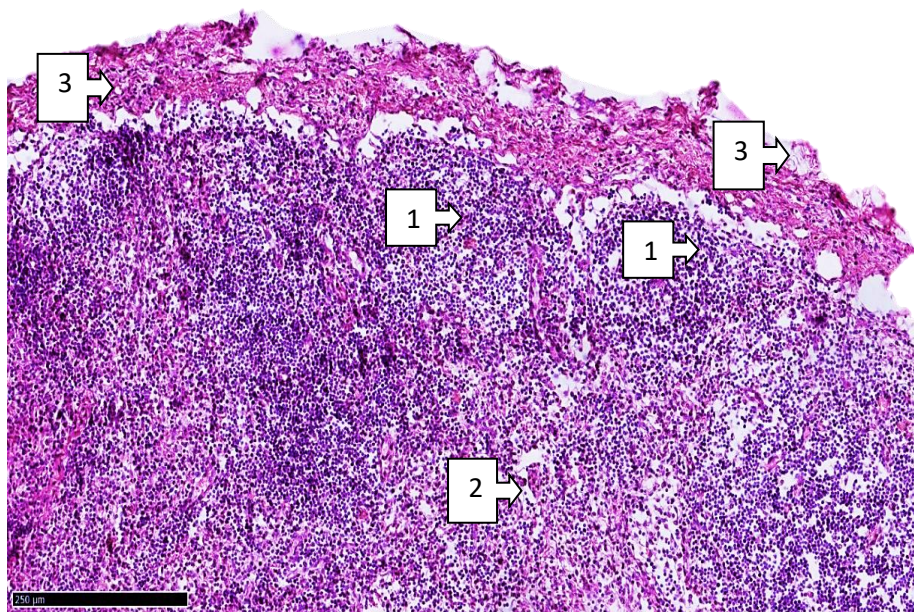
**Таблица 3**

**Сравнительная характеристика шейных лимфатических узлов контрольной группы и группы эксперимента у 9-ти месячных крыс (мкм),  $M \pm m$**

№	Параметры	контрольная группа (n=16)	группа эксперимента (n=20)
1	Толщина капсулы	$6,1 \pm 0,04$	$10,45 \pm 0,14$
2	Толщина паракортикальной зоны	$184,7 \pm 17,08$	$229,25 \pm 13,7^*$
3	Диаметр трабекул	$73 \pm 4,92$	$89 \pm 4,25$
4	Толщина кортикальной зоны	$347,5 \pm 17,73$	$405,94 \pm 17,76^*$
5	Площадь краевого синуса	$4,15 \pm 0,15$	$7,8 \pm 0,12$
6	Толщина мозговой зоны	$345,43 \pm 16,37$	$411,05 \pm 21,95^*$
7	Площадь мозгового синуса	$11,15 \pm 0,1$	$19,68 \pm 0,12$
8	Площадь лимфоидного фолликула	$212,5 \pm 14,7$	$176,43 \pm 9,49^*$

**Примечание:** \* -  $p < 0,05$ ; достоверность различий в сравнении с предыдущей группой

Относительная площадь герминативного центра шейных лимфатических узлов составляла от 98,6 до 254,3 мкм, в среднем  $176,43 \pm 9,49$  мкм, что на 12,0% меньше, чем у крыс контрольной группы ( $p < 0,05$ ).



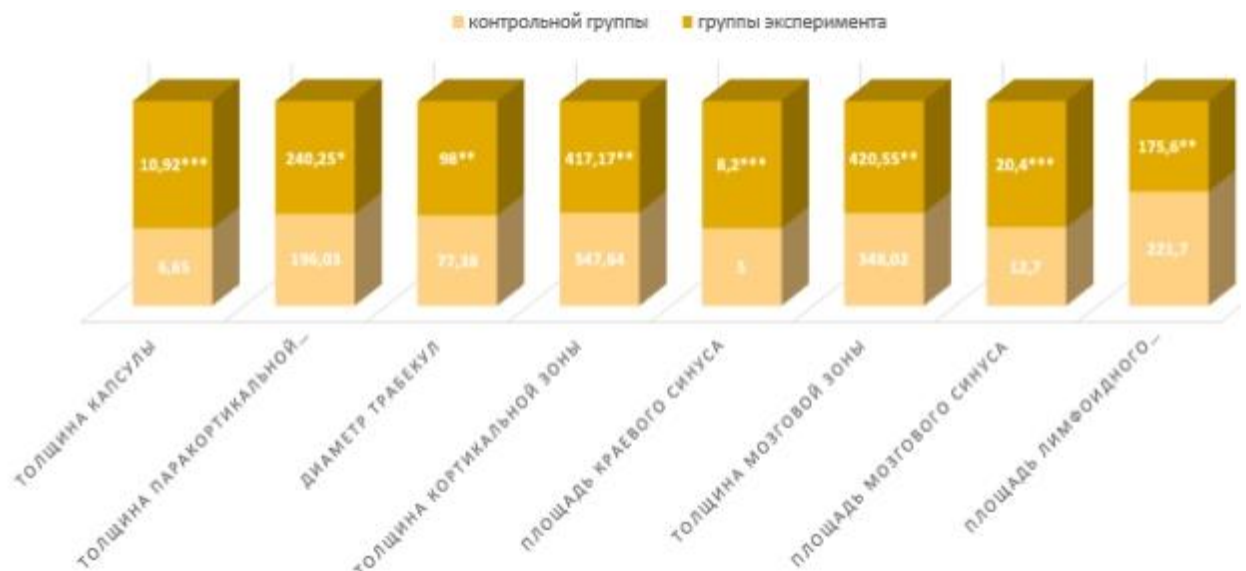
**Рисунок 14.** Шейный лимфатический узел 9-месячной крысы группы эксперимента. В корковом слое определяются следы лимфоидных фолликулов, очаги делимфатизации (1), ретикулоцитоз в стенке трабекулярных структур (2), разная толщина капсулы лимфатического узла и субкапсулярных разветвлений (3). Окраска гематоксилин-эозином. Ок.10, об.10.

Наблюдалась инактивация корковых и паракортикальных ветвей коры, которые являются активными зонами лимфатического узла. На общем виде при 40-кратном увеличении в корковом веществе лимфатических узлов большая часть лимфоидных фолликулов уменьшена, тень герминативного центра небольших размеров, строма голая, неравномерное наполнение посткапиллярных венул, признаки плазматического отека в периваскулярных зонах. В мозговой зоне наблюдается разветвленный вид мозговых полос, вокруг полос обнаруживается большое количество макрофагов и ретикулоцитов. Расстояние между полосами расширено, а размеры пространств в строме увеличены. Эти изменения в лимфатических узлах 9-ти месячных крыс приводит к лимфосклерозу и снижению дренажной функции регионарных лимфатических узлов при фиброзе легких (Рис.14).

У **12-ти месячных** показатели толщины стенки капсулы в норме составляли от 6,1 мкм до 7,2 мкм, в среднем –  $6,65 \pm 0,09$  мкм, а в эксперименте в шейных лимфатических узлах размеры составили от 10,5 мкм

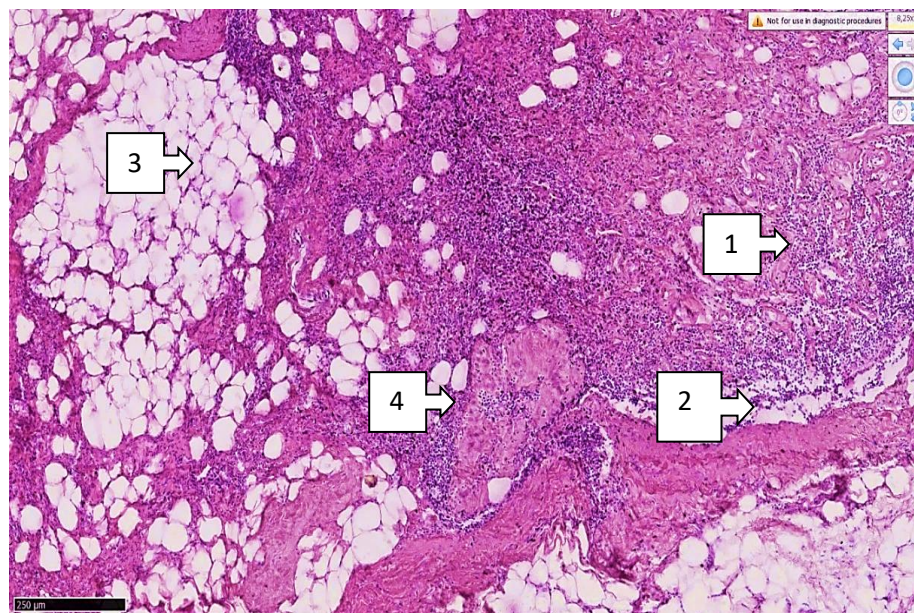
до 11,9 мкм, в среднем –  $10,92 \pm 0,08$  мкм, увеличение на 16,4% ( $p < 0,001$ ); паракортикальная зона в норме составила от 107,7 мкм до 315,4 мкм, в среднем имела размеры  $196,03 \pm 14,78$  мкм, а после воздействия диоксида азота на респираторные пути подопытных животных размеры составили от 130,6 мкм до 349,9 мкм, в среднем –  $240,25 \pm 13,94$  мкм; диаметр трабекул в группе контроля были от 57,40 мкм до 152,00 мкм, в среднем –  $79,38 \pm 4,79$  мкм, а тот же показатель в группе эксперимента изменился незначительно от 63,9 мкм до 132,1 мкм, в среднем показатели были равны  $98 \pm 4,24$  мкм; площадь краевого синуса в группе контроля составляла от 4,2 мкм до 5,8 мкм, в среднем  $5,0 \pm 0,11$  мкм, а в группе эксперимента обнаружилось изменение 7,1-9,3 мкм, в среднем  $8,2 \pm 0,13$ , увеличение на 16,4% ( $p < 0,001$ ); а площадь мозгового синуса в норме при этом имела размеры от 11,3 мкм до 14,1 мкм, в среднем  $12,7 \pm 0,17$  мкм, а после окончания эксперимента от 20,5 мкм до 22,4 мкм, в среднем  $20,635 \pm 0,09$  мкм, увеличение на 16,2% ( $p < 0,001$ ); кортикальная зона увеличилась в норме составили от 232,80 мкм до 546,60 мкм, в среднем –  $347,64 \pm 15,52$  мкм, а в группе эксперимента были от 264,3-571,1 мкм, в среднем показатели составили  $417,17 \pm 21,19$  мкм; площадь мозговой зоны у крыс неподверженных воздействию диоксида азота увеличилась в размере и уже составила от 224,3-541,8 мкм, в среднем имела размеры  $348,02 \pm 17,95$  мкм, а в группе эксперимента значения были почти одинаковыми и составили от 269,7-571,4 мкм, среднее значение составило  $420,55 \pm 20,37$  мкм (См. Рис. 15).

Относительная площадь герминативного центра шейных лимфатических узлов составляла от 97,4 мкм до 249,8 мкм, в среднем  $175,6 \pm 9,36$  мкм, что на 11,4% меньше, чем у крыс контрольной группы ( $p < 0,05$ ).



**Рисунок 15. Характеристика морфометрических показателей шейных лимфатических узлов при сравнении контрольной и экспериментальной группы у 12-ти месячных крыс**

На рисунке 16 описаны изменения в шейных лимфатических узлах, которые наступили на конец эксперимента, то есть на 90-е сутки. В лимфоидных фолликулах наблюдались пролиферативные центры и широкий мантийный слой, что свидетельствует о вторичной антигенной стимуляции.



**Рисунок 16. Шейный лимфатический узел 12-месячной крысы группы эксперимента. На месте лимфоидных фолликулов рубцовая соединительная ткань (1), очаги жировой ткани, образующиеся в паракортикальных ветвях (2), границы коркового и мозгового вещества практически не выявляются. Окраска гематоксилин-эозином. Ок.40хоб.10.**

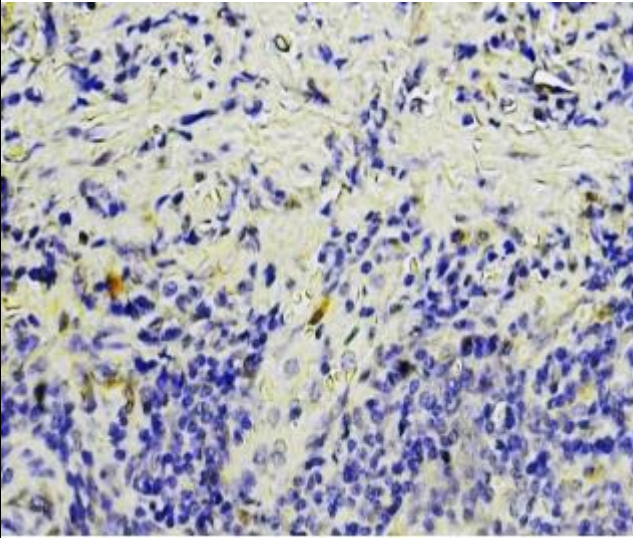
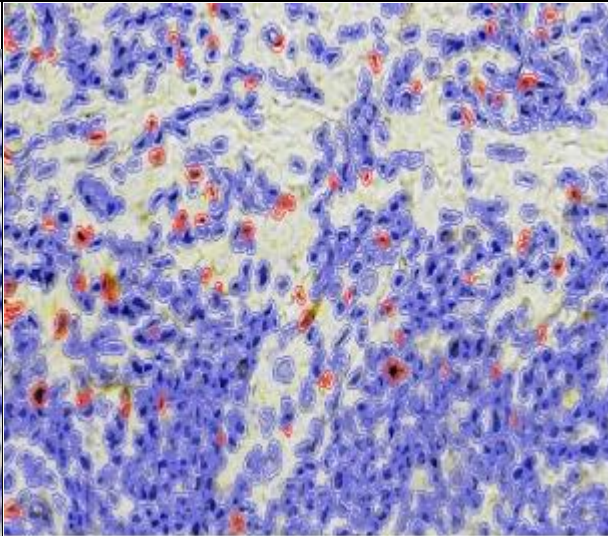
Лимфоидные фолликулы не имели чётких границ, выявлялась рубцовая соединительная ткань, частичное замещение жировой тканью, границы коркового и мозгового вещества размыты. Выявлялись признаки фолликулярной гиперплазии. Четкая идентификация коркового и паракортикального слоев была затруднена из-за высокой клеточной плотности лимфоцитами.

**Иммуногистохимическая характеристика  
подмышечных и шейных лимфатических узлов крыс  
в группе контроля и при экспериментальном фиброзе легких**

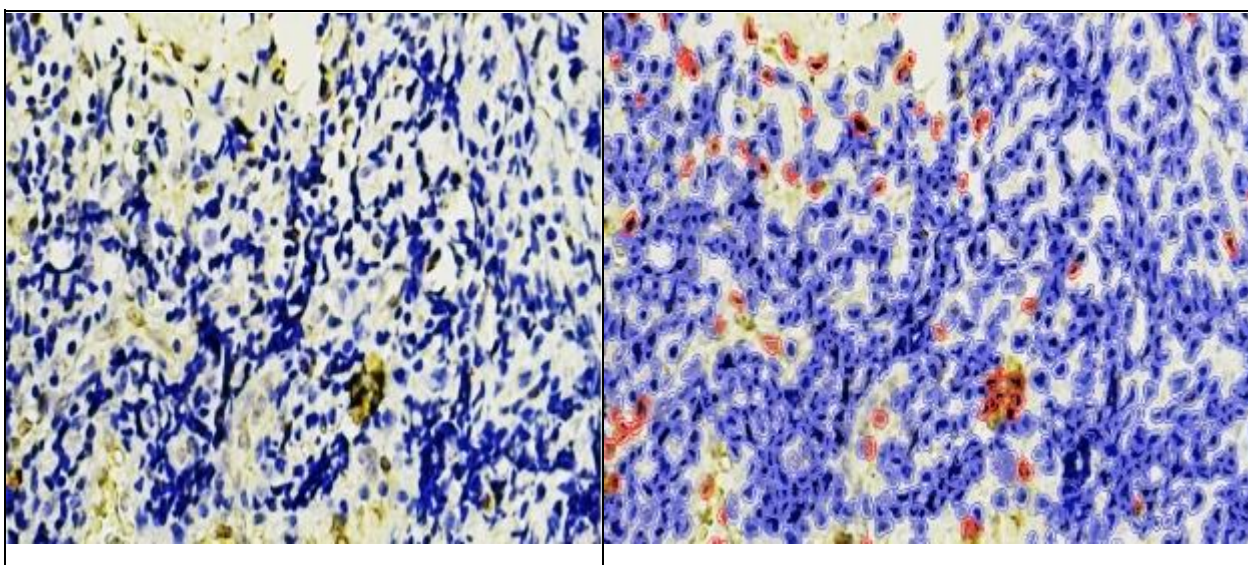
Bcl-2 — это белок, кодируемый геном Bcl-2 в организме человека, который обеспечивает гибель клеток, или апоптоз. Этот белок расположен в цитоплазме клетки на внешней мембране митохондрий и играет важную роль в выживании клетки. В то же время он останавливает эффекты, ускоряющие процесс апоптоза. К белкам, усиливающим апоптоз, относятся Bax и Cas, которые являются членами семейства белков Bcl-2 и расположены на внутреннем полюсе митохондрий клеток. Эти белки воздействуют на мембрану митохондрий клетки, что приводит к высвобождению цитохрома C и фосфоинозитида из внутреннего полюса митохондрий в цитоплазму, что, в свою очередь, действует как сигнал, инициирующий процесс апоптоза. Белок Bcl-2 обеспечивает блокировку белков, усиливающих этот процесс апоптоза. На сегодняшний день в результате тщательных исследований данного маркера выявлено, что Bcl-2 контролирует процессы, связанные с делением митохондрий и их слиянием. Повреждение гена белка Bcl-2 происходит при различных злокачественных опухолях, аутоиммунных заболеваниях и под воздействием многих других факторов, вызывающих повреждение клеток. Это нарушает баланс между ростом и смертью клеток. В результате снижения блокирующего эффекта процесса апоптоза, увеличение факторов, усиливающих процесс апоптоза, приводит к развитию опухолевых процессов.

Иммуногистохимическое исследование микропрепаратов, выделенных из тканей белых беспородных крыс в возрасте 6, 9 и 12 месяцев, разделенных на 3 группы, выявило разный уровень экспрессии маркера Bcl-2.

**Иммуногистохимические показатели регионарных лимфатических узлов  
белых беспородных крыс контрольной группы**

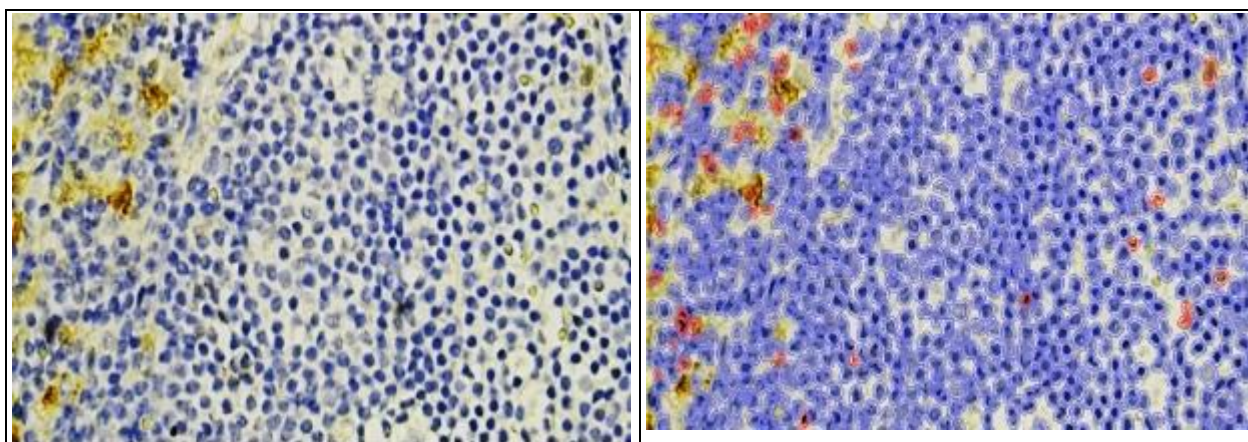
	
Общее количество обнаруженных клеток	1049
Позитивные клетки	78
Негативные клетки	971
Позитивная экспрессия	7.43 %
Общая площадь	526824 px <sup>2</sup>

**Рисунок 17.** Маркер Bcl-2 экспрессировался на низком уровне в тканях подмышечных лимфатических узлов 6-месячных белых беспородных крыс контрольной группы. Мазок окрашивали хромогенным методом. Изображение увеличено в 400 раз. Просканировано на программе QuPath-0.4.0.ink и определен уровень экспрессии. Экспрессированные клетки отмечены красным.



Общее количество обнаруженных клеток	1072
Позитивные клетки	69
Негативные клетки	1003
Позитивная экспрессия	6.43 %
Общая площадь	529916 px <sup>2</sup>

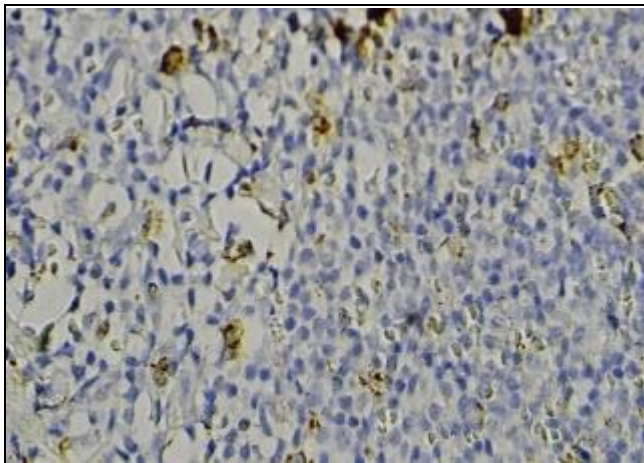
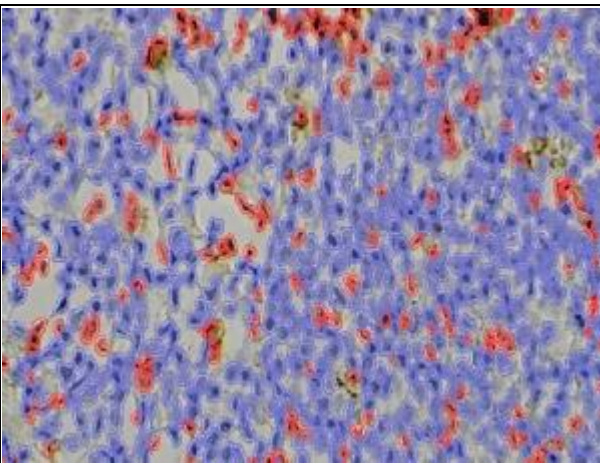
**Рисунок 18.** Маркер Vcl-2 экспрессировался на низком уровне в тканях шейных лимфатических узлов 9-месячных белых беспородных крыс контрольной группы. Мазок окрашивали хромогенным методом. Изображение увеличено в 400 раз. Просканировано на программе QuPath-0.4.0.ink и определен уровень экспрессии. Экспрессированные клетки отмечены красным.



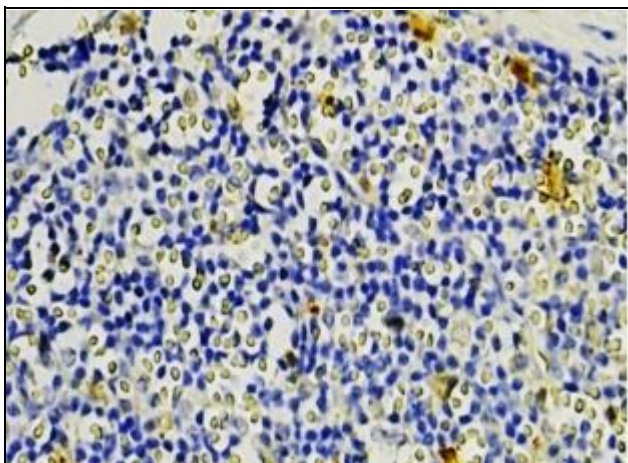
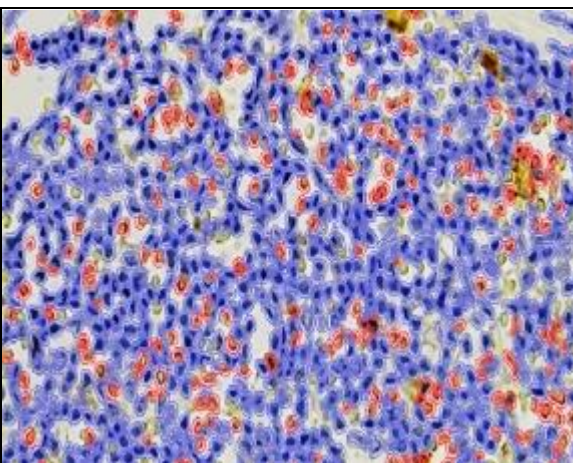
Общее количество обнаруженных клеток	1041
Позитивные клетки	45
Негативные клетки	996
Позитивная экспрессия	4.32 %
Общая площадь	531804 px <sup>2</sup>

**Рисунок 19.** Маркер Vcl-2 экспрессировался на низком уровне в тканях шейных лимфатических узлов 12-месячных белых беспородных крыс контрольной группы. Мазок окрашивали хромогенным методом. Изображение увеличено в 400 раз. Просканировано на программе QuPath-0.4.0.ink и определен уровень экспрессии. Экспрессированные клетки отмечены красным.

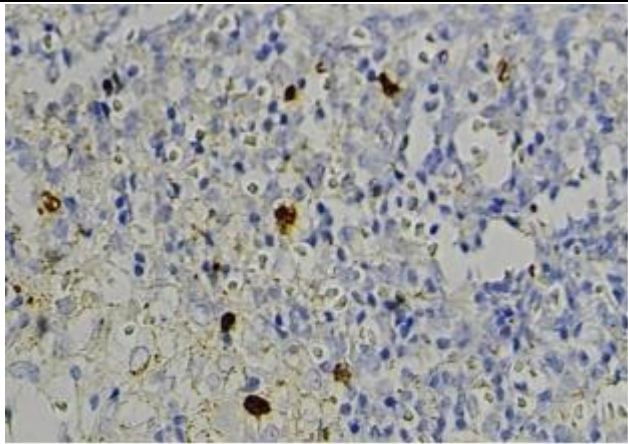
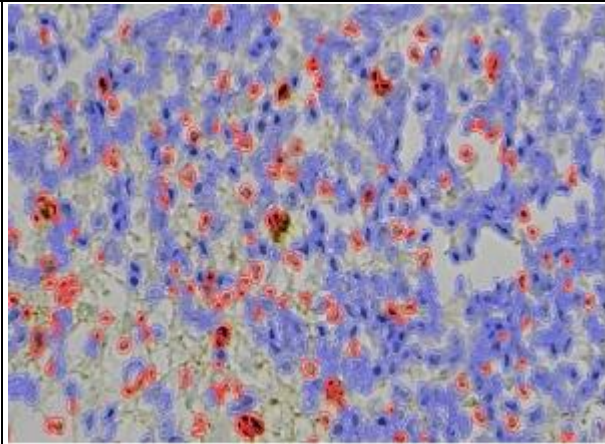
**Сравнение иммуногистохимических показателей регионарных лимфатических узлов белых беспородных крыс при экспериментальном фиброзе легких**

	
Общее количество обнаруженных клеток	921
Позитивные клетки	209
Негативные клетки	712
Позитивная экспрессия	22.69 %
Общая площадь	526710 px <sup>2</sup>

**Рисунок 20. Маркер Bcl-2 экспрессировался на низком уровне в тканях подмышечных лимфатических узлов 6-месячных белых беспородных крыс экспериментальной группы. Мазок окрашивали хромогенным методом. Изображение увеличено в 400 раз. Просканировано на программе QuPath-0.4.0.ink и определен уровень экспрессии. Экспрессированные клетки отмечены красным.**

	
Общее количество обнаруженных клеток	1154
Позитивные клетки	254
Негативные клетки	900
Позитивная экспрессия	22.01 %
Общая площадь	530166 px <sup>2</sup>

**Рисунок 21.** Маркер Vcl-2 экспрессировался на низком уровне в тканях шейных лимфатических узлов 9-месячных белых беспородных крыс экспериментальной группы. Мазок окрашивали хромогенным методом. Изображение увеличено в 400 раз. QuPath-0.4.0.ink. Программа была просканирована и определен уровень экспрессии. Экспрессированные клетки отмечены красным.

	
Общее количество обнаруженных клеток	822
Позитивные клетки	174
Негативные клетки	648
Позитивная экспрессия	21.16 %
Общая площадь	523908 px <sup>2</sup>

**Рисунок 22.** Маркер Vcl-2 экспрессировался на низком уровне в тканях шейных лимфатических узлов 12-месячных белых беспородных крыс экспериментальной группы. Мазок окрашивали хромогенным методом. Изображение увеличено в 400 раз. Просканировано на программе QuPath-0.4.0.ink и определен уровень экспрессии. Экспрессированные клетки отмечены красным.

При анализе данных контрольной группы выявлена низкая экспрессия маркера Vcl-2 в периферических лимфатических узлах крыс 6, 9 и 12-ти месячного возраста. Экспрессия преимущественно была обнаружена в лимфоцитах первичных лимфатических узлов, и средняя экспрессия составила 7,43% у 6-ти месячных, 6,43% у 9-ти месячных и 4,32% у 12-ти месячных крыс. Это объясняется тем, что с возрастом у крыс замедляется процесс апоптоза, то есть за счёт процессов старения организма.

В группе эксперимента при изучении данных, полученных от белых беспородных крыс 6-, 9- и 12-месячного возраста определялась более высокая экспрессия маркера Vcl-2 в периферических лимфатических узлах. Экспрессия была обнаружена в основном в лимфоцитах периферических

лимфатических узлов, и средний показатель экспрессии составил 22,61% у 6-ти месячных, 22,01% у 9-ти месячных и 21,16% у 12-ти месячных крыс. В периферических лимфатических узлах группы эксперимента наблюдалось снижение процесса апоптоза за счет образования фиброзной ткани.

## **МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГИОНАРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ФИБРОЗЕ ЛЕГКИХ, ПРИНИМАВШИХ МАСЛО КОСТОЧЕК ГРАНАТА**

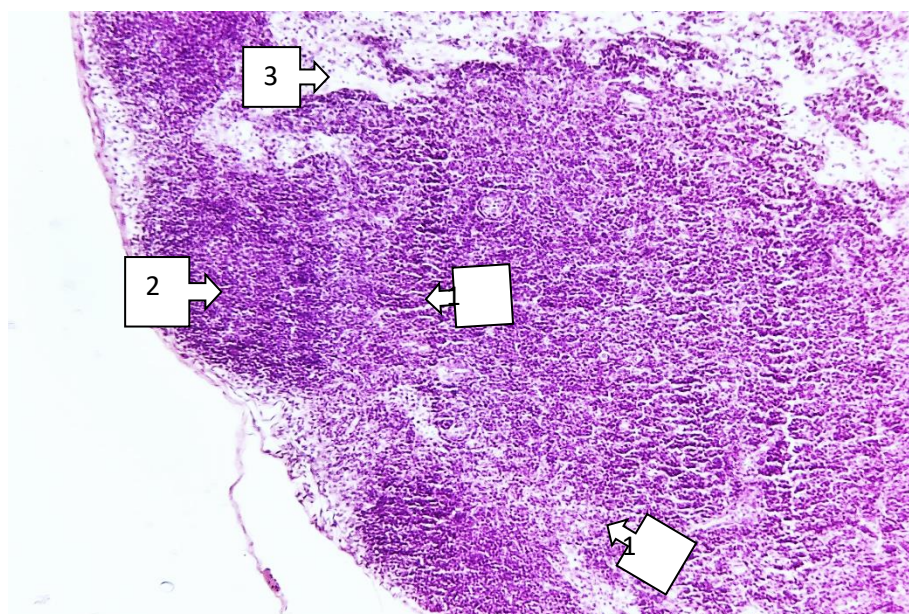
### **Особенности морфологических изменений подмышечных лимфатических узлов экспериментальной группы после коррекции маслом косточек граната**

Результаты исследования показали, что масло косточек граната благоприятно влияет на морфологию лимфатических узлов уже через 10 суток после начала коррекции маслом косточек граната обнаруживается увеличение количества функционирующих зон лимфатических узлов у 6, 9 и 12-месячных крыс. Коррекция маслом косточек граната, по-видимому, стимулирует восстановление структур лимфатического узла в большей степени, в отличие от крыс группы эксперимента, которые не получали коррекцию маслом косточек граната.

У **6-ти месячных крыс** толщина капсулы подмышечных лимфатических узлов имели размеры после коррекции в среднем  $9,13 \pm 0,17$  мкм, т.е. мы видим тенденцию уменьшения на 11,6%, диаметр трабекул составлял в среднем –  $63,3 \pm 4,73$  мкм (меньше на 14,9%), а до коррекции толщина капсулы имела размеры в среднем –  $10,6 \pm 0,08$  мкм, диаметр трабекул составлял в среднем –  $94,35 \pm 4,93$  мкм. Данные показатели выявлены с высокой достоверностью, а остальные показатели были с низкой вероятностью достоверности. До коррекции мозговые синусы имели площадь  $21,8 \pm 0,29$  мкм, площадь краевого синуса –  $7,85 \pm 0,17$  мкм, а после коррекции

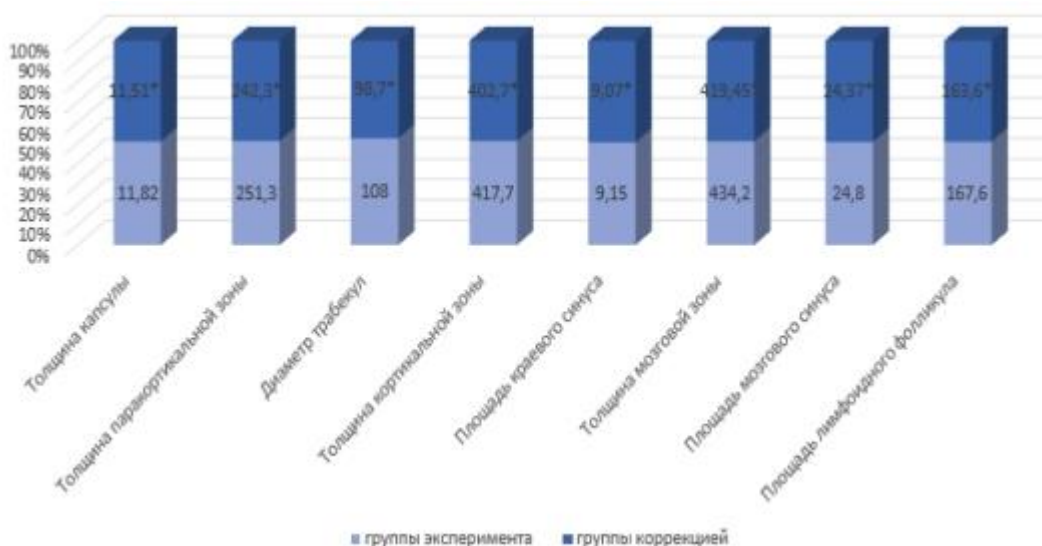
значения изменились незначительно: мозговой синус –  $16,65 \pm 0,56$  мкм, заметно улучшение на 13%, краевой синус –  $4,25 \pm 0,05$  мкм, улучшение на 18,4%.

Сравнивая структуры лимфатических узлов групп с коррекцией маслом косточек граната и без, можно отметить, что в группе с коррекцией маслом косточек граната наблюдается значительное уменьшение относительных размеров капсулы узла, краевого и мозговых синусов, при увеличении размеров паракортикальной зоны, что, по-видимому, связано с большой эффективностью масла косточек граната в восстановлении структурно-функциональной организации региона сбора и транспорта лимфы (Рис. 23).



**Рис. 23.** Подмышечный лимфатический узел 6-ти месячной крысы после коррекции маслом косточек граната. В коре лимфатического узла определяются лимфоидные фолликулы разного размера (1), слабо сформированные ветви вторичной гиперплазии в герминальном центре (2), полосатые и разветвления лимфоцитов в паракортикальных ветвях (3). Окраска гематоксилин-эозином. Ок.10, об.10.

Установлено, что у **9-ти месячных крыс** толщина капсулы подмышечных лимфатических узлов имели размеры без коррекции в среднем  $10,6 \pm 0,08$  мкм, а после коррекции в среднем –  $9,95 \pm 0,09$  мкм, т.е. можно отметить улучшение на 10,6%. Остальные показатели были почти равны с группой сравнения и не имели высокой достоверности (Рис. 24).

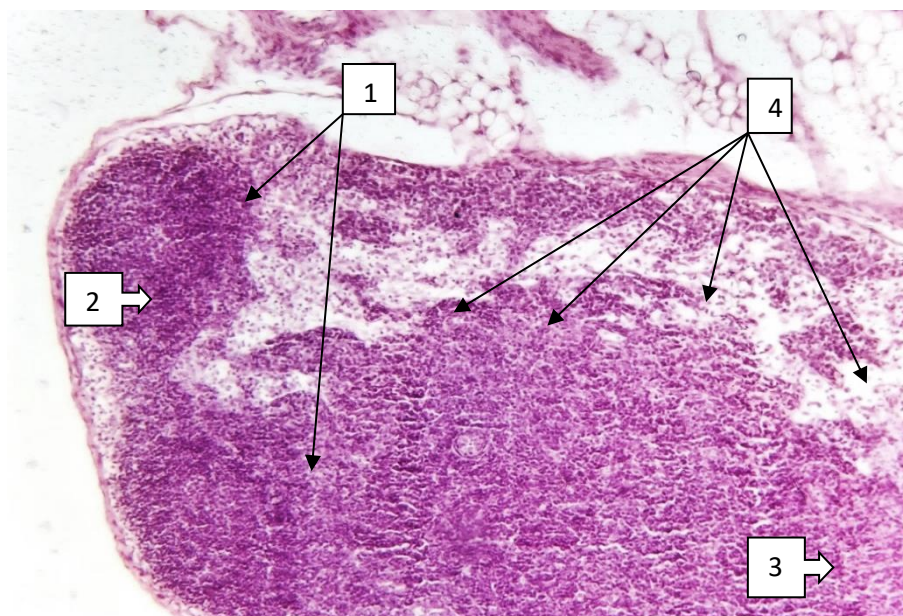


**Рисунок 24. Анализ результатов исследования морфометрических показателей подмышечных лимфатических узлов группы эксперимента без коррекции и группы с коррекцией маслом косточек граната**

В результате длительность процесса показала, что все иммунные клетки, являющиеся основным ресурсом, мигрируют в регионарные лимфатические узлы. Эта зона преимущественно сохраняется до 60 суток эксперимента, а после окончания процесса общая картина всех морфофункциональных зон лимфатических узлов восстанавливается.

Результаты нашего исследования показали, что при сравнении подмышечных лимфатических узлов **12-ти месячных крыс** до коррекции площадь краевого синуса –  $9,15 \pm 0,2$  мкм, а после коррекции –  $9,07 \pm 0,2$  мкм, т.е. улучшение составило 10%. Остальные показатели статистической значимости не имели.

В коре подмышечных лимфатических узлов 12-ти месячной крысы определяются лимфоидные фолликулы разного размера, слабо сформированные ветви вторичной гиперплазии в первичном лимфоидном фолликуле, выявляются полосатые и ребристые разветвления лимфоцитов в паракортикальных ветвях. В мозговом веществе имеются области с небольшим количеством бокаловидных клеток (Рис. 25).



**Рисунок 25.** Шейный лимфатический узел 12-ти месячной крысы группы эксперимента после коррекции маслом косточек граната. Лимфоидные фолликулы разного размера (1), ветви герминативного центра (2), разветвления в паракортикальных ветвях (3), бокаловидных клеток мозгового вещества (4). Окраска гематоксилин-эозином. Ок.10, об.10.

По завершении этапа коррекции маслом косточек граната можно суммировать, что улучшение наступает в очень небольших участках лимфатического узла, так как фиброзирование ткани является необратимым процессом в целом. Однако при длительном применении могут наступать значительно видимое улучшение, судя по позитивным изменениям в капсуле и мозговых и краевых синусах регионарных лимфатических узлов некоторых возрастов крыс.

### **Особенности морфологических изменений шейных лимфатических узлов экспериментальной группы после коррекции маслом косточек граната**

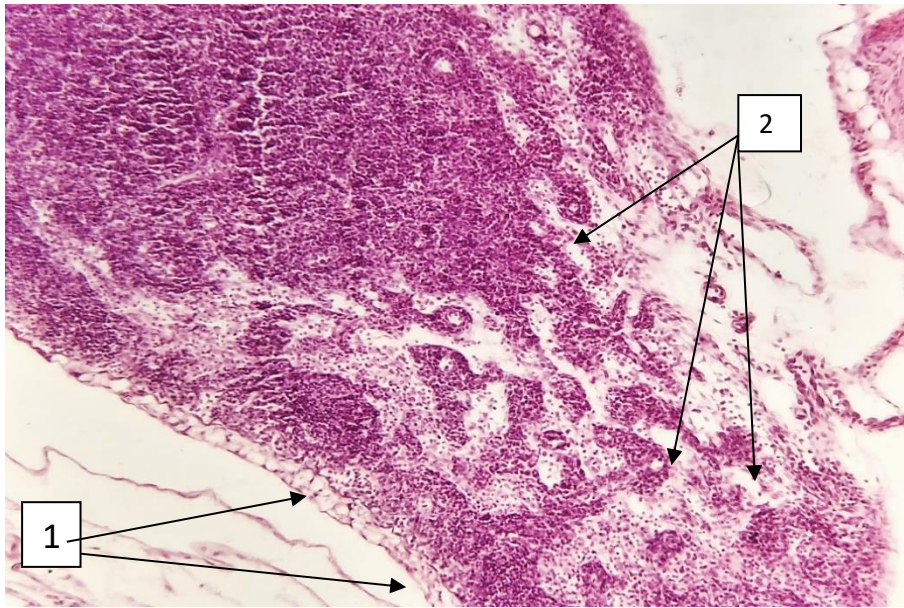
При исследовании шейных лимфатических узлов **6-ти месячных крыс** до коррекции и после коррекции маслом косточек граната: толщина капсулы имели размеры без коррекции в среднем  $9,84 \pm 0,14$  мкм, а после коррекции толщина капсулы в среднем –  $8,2 \pm 0,05$  мкм, т.е. выявлено улучшение на 12%. До коррекции мозговые синусы имели площадь  $18,96 \pm 0,23$  мкм, а площадь

краевого синуса –  $7,4 \pm 0,1$  мкм, а после коррекции значения изменились незначительно: мозговой синус –  $16,75 \pm 0,37$  мкм, улучшение на 11,3%, краевой синус –  $6,7 \pm 0,12$  мкм, улучшение также на 11%.

Сравнивая структуры лимфатических узлов групп с коррекцией маслом косточек граната и без, можно отметить, что в группе с коррекцией маслом косточек граната наблюдается значительное уменьшение относительных размеров капсулы узла, краевого и мозговых синусов, при увеличении размеров паракортикальной зоны, что, по-видимому, связано с большой эффективностью масла косточек граната в восстановлении структурно-функциональной организации региона сбора и транспорта лимфы.

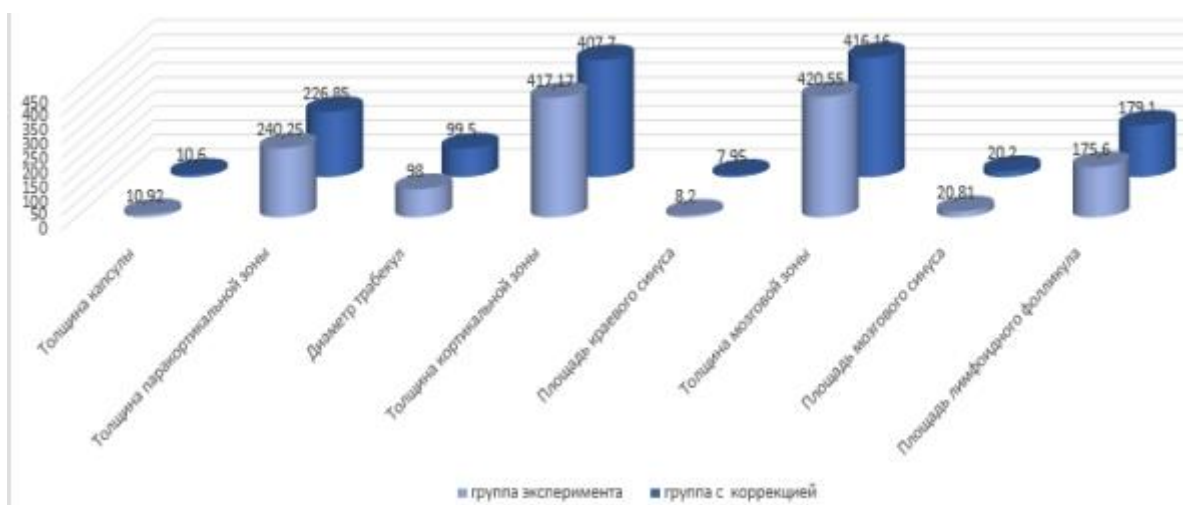
Показатели шейных лимфатических узлов у **9-ти месячных крыс** при сравнении дали результат, а именно толщина капсулы имела размеры без коррекции в среднем  $10,6 \pm 0,08$  мкм, а после коррекции значения были таковыми: толщина капсулы в среднем –  $9,45 \pm 0,17$  мкм, выявлено улучшение на 11,2%. До коррекции мозговые синусы имеют площадь  $21,8 \pm 0,29$  мкм, а после коррекции –  $17,9 \pm 0,27$  мкм, т.е. на 12,1%.

В результате длительность процесса показала, что все иммунные клетки, являющиеся основным ресурсом, мигрируют в регионарные лимфатические узлы. Эта зона преимущественно сохраняется до 60 суток эксперимента, а после окончания процесса общая картина всех морфофункциональных зон лимфатических узлов восстанавливается (Рис. 26).



**Рисунок 26.** Шейный лимфатический узел 9 месячной крысы группы эксперимента после коррекции маслом косточек граната. Участки без кортикальных слоев заполняются медуллярными слоями (декортикация) (1), формируются очаги лейкоцитарной инфильтрации вокруг трабекулярных структур, интерстициальные вздутия (2), в гистоархитектонике лимфатического узла выявлено уменьшение клеточного содержания. Окраска гематоксилин-эозином. Ок.40хоб.10.

В результате сравнения шейных лимфатических узлов **12-ти месячных крыс** выявлены изменения с низкой достоверностью только в одном показателе, а именно толщина капсулы имела размеры без коррекции в среднем  $10,92 \pm 0,08$  мкм, а после коррекции значения были таковыми: толщина капсулы в среднем –  $10,6 \pm 0,1$  мкм, с незначительным улучшением на 10,3% (См. Рис. 27).

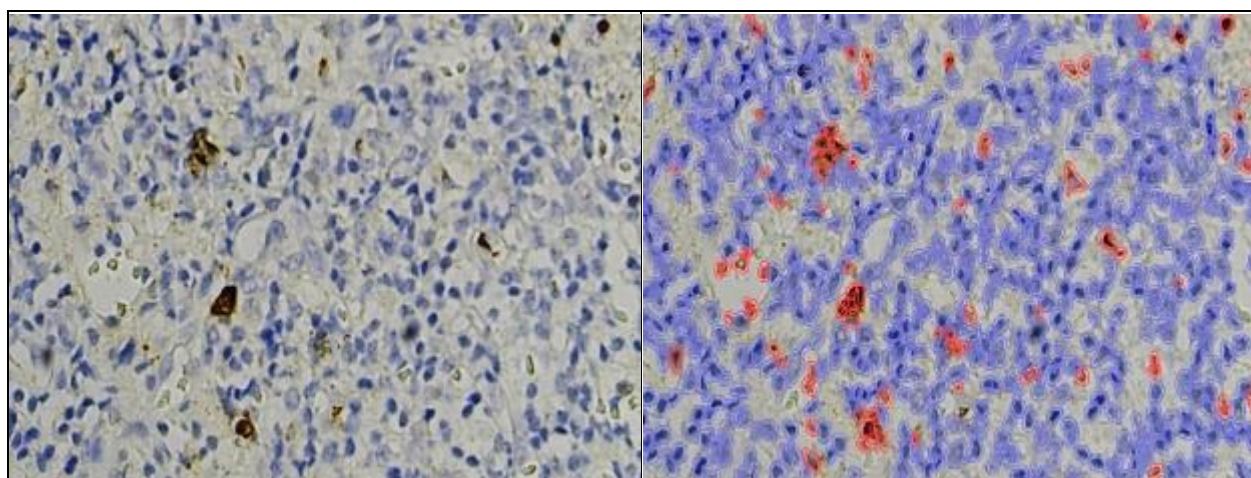


**Рисунок 27. Анализ результатов исследования морфометрических показателей шейных лимфатических узлов групп эксперимента без коррекции и группы с коррекцией маслом косточек граната**

В коре шейного лимфатического узла 12-ти месячной крысы определяются лимфоидные фолликулы разного размера, слабо сформированные ветви вторичной гиперплазии в первичном лимфоидном фолликуле, выявляются полосатые и ребристые разветвления лимфоцитов в паракортикальных ветвях. В мозговом веществе имеются области с небольшим количеством бокаловидных клеток.

По завершении этапа коррекции маслом косточек граната можно суммировать, что улучшение наступает в очень небольших участках лимфатического узла, так как фиброзирование ткани является необратимым процессом в целом. Однако при длительном применении могут наступать значительно видимое улучшение, судя по позитивным изменениям в капсуле и мозговых и краевых синусах регионарных лимфатических узлов некоторых возрастов крыс.

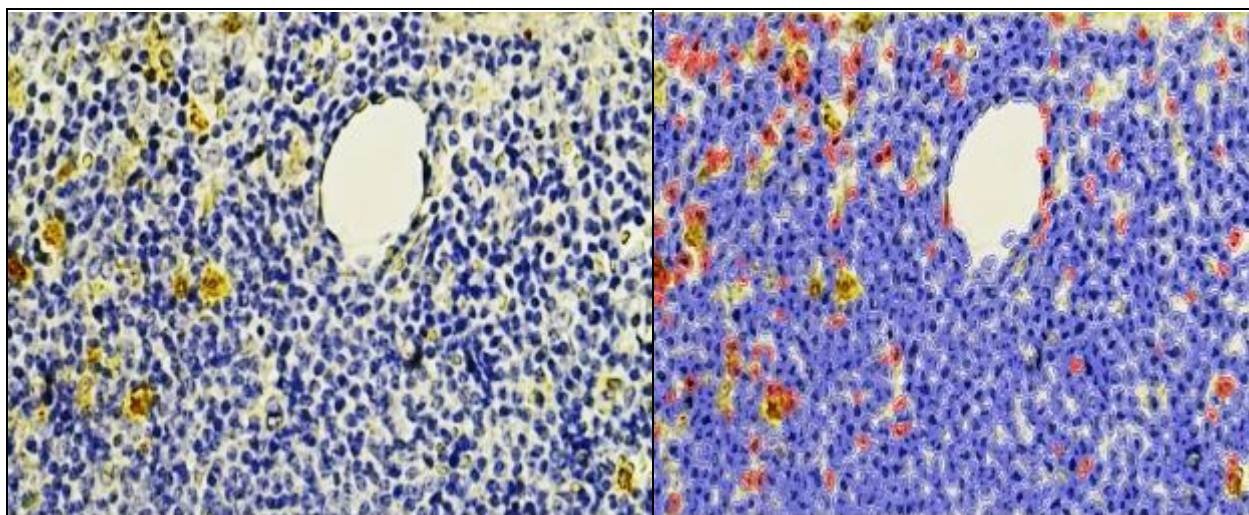
**Сравнительная характеристика иммуногистохимической биореактивности региональных лимфатических узлов беспородных белых крыс после коррекции маслом косточек граната при экспериментальном фиброзе легких**



Общее количество обнаруженных клеток	813
Позитивные клетки	93
Негативные клетки	720

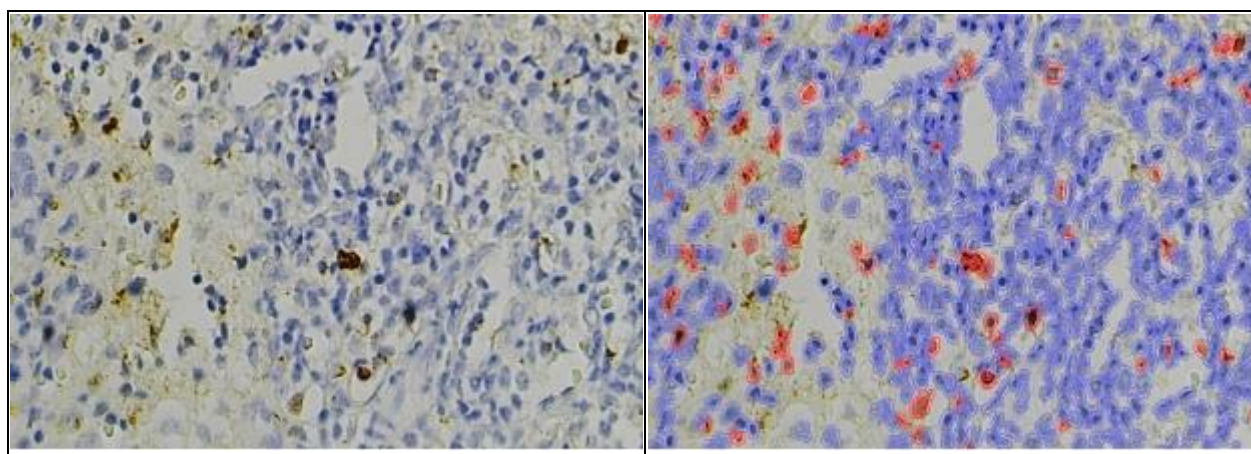
Позитивная экспрессия	11.43 %
Общая площадь	530043 px <sup>2</sup>

**Рисунок-28.** Маркер Vcl-2 экспрессировался на низком уровне в тканях шейных лимфатических узлов 6-месячных белых беспородных крыс в группе после коррекции. Мазок окрашивали хромогенным методом. Изображение увеличено в 400 раз. Просканировано на программе QuPath-0.4.0.ink и определен уровень экспрессии. Экспрессированные клетки отмечены красным.



Общее количество обнаруженных клеток	1403
Позитивные клетки	144
Негативные клетки	1259
Позитивная экспрессия	10.25 %
Общая площадь	531684 px <sup>2</sup>

**Рисунок-29.** Маркер Vcl-2 экспрессировался на низком уровне в тканях подмышечных лимфатических узлов 9-месячных белых беспородных крыс в группе после коррекции. Мазок окрашивали хромогенным методом. Изображение увеличено в 400 раз. Просканировано на программе QuPath-0.4.0.ink и определен уровень экспрессии. Экспрессированные клетки отмечены красным.



Общее количество обнаруженных клеток	810
Позитивные клетки	103
Негативные клетки	707
Позитивная экспрессия	12.71 %
Общая площадь	529916 px <sup>2</sup>

**Рисунок-30. Маркер Bcl-2 экспрессировался на низком уровне в тканях шейных лимфатических узлов 12-месячных белых беспородных крыс в группе после коррекции. Мазок окрашивали хромогенным методом. Изображение увеличено в 400 раз. Просканировано на программе QuPath-0.4.0.ink и определен уровень экспрессии. Экспрессированные клетки отмечены красным.**

При анализе данных от белых беспородных крыс в группе биокоррекции выявлена относительно низкая экспрессия маркера Bcl-2 в периферических лимфатических узлах 6-, 9- и 12-месячных крыс. Экспрессия преимущественно была обнаружена в лимфоцитах первичных лимфатических узлов, и средняя экспрессия составила 11,43% у 6-ти месячных, 10,25% у 9-ти месячных и 12,71% у 12-ти месячных крыс. Доказано, что показатели после коррекции маслом косточек граната в регионарных лимфатических узлах крыс приближались к показателям контрольной группы, но полного восстановления не произошло.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время убедительно доказано, что изменения морфологической структуры и функционального состояния лимфатических узлов выявляются практически при каждом заболевании лёгких, в рамках которого проводилось их изучение. Существенным прорывом в понимании роли лимфатических узлов в патологии органов дыхания стали экспериментальные модели различных заболеваний лёгких, позволяющие проводить более углублённые и механистически обоснованные исследования лёгочных лимфатических узлов (Gorobets O. et al., 2024).

Лёгочные лимфатические узлы играют ключевую роль в координации адаптивного иммунного ответа, выступая в качестве основного звена миграции иммунных клеток из лёгочной ткани в дренирующие лимфатические узлы, где осуществляется формирование ответа на инфекционные и воспалительные стимулы. Особое значение в этом процессе принадлежит незрелым дендритным клеткам, локализованным на периферии лёгких, которые обеспечивают постоянный иммунный надзор за поверхностью дыхательных путей. Дендритные клетки лёгких первоначально мигрируют в бронхолёгочные лимфатические узлы, после чего дренируются в средостенный лимфатический ствол, что является важнейшим механизмом организации адекватного иммунного ответа (Hutchinson J. et al., 2015; Brownell R. et al., 2016; Lescoat A., 2019; Goorsenberg A., 2020; Durán Barata, 2023; He X. et al., 2024).

Связь фиброзной патологии лёгких с нарушением структуры и функции лимфатических узлов, а также ограниченные возможности современных методов коррекции данной проблемы обуславливают повышенный интерес врачей различных специальностей к этому вопросу. В то же время анализ литературных данных свидетельствует о недостаточной изученности морфофункциональных особенностей клеточных структур регионарных лимфатических узлов при фиброзе лёгких. В связи с этим нами

было проведено экспериментальное исследование, направленное на изучение данной проблемы.

Таким образом, результаты проведённого исследования подтверждают, что лимфатические узлы являются активным и функционально значимым звеном патогенеза фиброза лёгких. Установлено, что при развитии фиброзной патологии лёгочной ткани в регионарных лимфатических узлах формируются выраженные морфологические и морфометрические изменения, отражающие их вовлечённость в хронический воспалительно-фиброзный процесс. Полученные данные согласуются с современными представлениями о ключевой роли лимфатической системы в координации иммунного ответа и регуляции тканевого гомеостаза лёгких.

Выявленные структурные перестройки регионарных лимфатических узлов свидетельствуют о нарушении миграции и функциональной активности иммунокомпетентных клеток, включая дендритные клетки, что может способствовать поддержанию персистирующего воспаления и прогрессированию фиброза лёгочной ткани. Экспериментальная модель фиброза лёгких позволила установить причинно-следственную связь между степенью выраженности фиброзных изменений в лёгких и характером морфологических нарушений в лимфатических узлах, что подтверждает их патогенетическую взаимосвязанность.

В целом, полученные результаты расширяют представления о морфофункциональной роли регионарных лимфатических узлов при фиброзе лёгких и подчёркивают их значение не только как органов иммунного надзора, но и как потенциальных мишеней для разработки новых диагностических и терапевтических подходов. Проведённое исследование вносит вклад в понимание механизмов формирования и прогрессирования фиброзной патологии лёгких и обосновывает целесообразность дальнейших комплексных морфологических и экспериментальных исследований в данном направлении.

При изучении белых беспородных крыс контрольной группы установлено, что гистологическое строение лимфатических узлов в нашей работе имеет сходство с описанными лимфатическими узлами в литературе, но были обнаружены различия в фолликулярном аппарате, кровоснабжении, разграничении коркового и мозгового слоев и капсуле в зависимости от возраста подопытных животных. Полученные морфологические и морфометрические различия также позволяют предположить о различной функциональной активности исследованных лимфатических узлов.

Статистически значимые различия ( $p > 0,05$ ) в группах при сравнении морфометрических показателей лимфатических узлов были найдены не во всех исследуемых структурах.

Разные группы регионарных лимфоузлов имеют различный характер и степень реагирования на экссудативный процесс в легких, при котором в большей степени вовлекаются подмышечные и шейные узлы. В структуре подмышечных и шейных лимфатических узлов более отчетливо наблюдается перестройка компонентов, отражающих протективную и дренажную функции, в сторону их угнетения, что может пролонгировать явления лимфостаза и образования фиброза в легких. Развитие изменений в структуре регионарных лимфатических узлов и связанная с этим неадекватность их дренажно-детоксикационной функции, с патогенетической точки зрения в определенной степени объясняют механизм развития фиброза легких и могут служить дополнением к существующим теориям патогенеза.

Наблюдались различия в фолликулярном аппарате, разграничении коркового и мозгового слоев и капсуле лимфатических узлов в зависимости от возраста животных группы контроля. Полученные морфологические и морфометрические различия позволяют предположить о различной функциональной активности исследованных подмышечных лимфатических узлов в разной возрастной категории.

В сроке 90 суток развитие фиброза в легочной ткани проявляется снижением дренажной функции паренхимы легких по лимфатическим

сосудам и возникновением атрофических и склеротических изменений в подмышечных и шейных лимфатических узлах.

Отмечаются те же различия в фолликулярном аппарате, коркового и мозгового слоев и капсуле лимфатических узлов в зависимости от возраста животных группы контроля. Полученные данные позволяют предположить о различной функциональной активности исследованных шейных лимфатических узлов у крыс разного возраста.

Гистологическое строение лимфатических узлов в нашей работе имеет сходство с описанными лимфатическими узлами в литературе, но были обнаружены различия в фолликулярном аппарате, разграничении коркового и мозгового слоев и капсуле в зависимости от возраста подопытных животных. Полученные морфологические и морфометрические различия также позволяют предположить о различной функциональной активности исследованных лимфатических узлов.

В результате лимфостаза и венозного застоя процесс хронической гипоксии в фиброзных ветвях легочной ткани приводит к образованию в пространстве грубой волокнистой соединительной ткани. На 90-е сутки нашего эксперимента развитие пневмофиброза проявляется снижением дренажной функции регионарных лимфатических узлов. Как и при пролиферативной стадии воспаления скопившиеся в большом количестве в очаге воспаления гематогенные клетки: стволовые клетки, плазматические клетки, лимфоциты, гистиоциты, макрофаги свидетельствуют о развитии продуктивной (пролиферативной) стадии процесса. В результате пролиферация мезенхимальных клеток, а именно фибробластов, гистиоцитов и плазматических клеток в нерегенеративных ветвях поврежденных и некротизированных эпителиальных клеток легочной ткани, подтверждает преобладание процесса пневмофиброза в легочной ткани.

В процессе лимфофолликулярной гиперплазии установлено, что трансформация первичных фолликулов во вторичные фолликулы отличается

от гиперпластических вторичных лимфоидных фолликулов по своему строению и морфофункциональному состоянию.

Характеризуется различной шириной субкапсулярных пространств в регионарных лимфатических узлах, различной толщиной капсулы лимфатического узла, очаговым субкапсулярным фиброзом и развитием очагов эластофиброза в стенке капсулы. С микроскопической точки зрения для него характерно изменение соотношения дермального и медуллярного слоев, разные размеры лимфоидных фолликулов в дермальном слое, оголение поверхностей в зародышевых центрах, уменьшение скопления лимфоцитов на периферии фолликулов и обилие мелких лимфоцитов. В то же время в паракортикальных клетках выявляется переменная смесь Т-лимфоцитов и небольшого количества плазматических клеток, гистиоцитов, макрофагов и ретикулоцитов. Эти морфологические изменения являются слабым проявлением вторичного иммунодефицита под влиянием хронических воспалений, хронических воздействующих факторов и характеризуются наличием мелких, крупных лимфоцитов вокруг посткапиллярных венул.

Известно, что в легочной ткани имеется 4 анатомических пространства: лимфатический сосуд, бронхиальное пространство, интерстициальное пространство, альвеолярное пространство, и в норме за 1 час человек выделяет в среднем 30-300 мл тканевой жидкости. Этот дренаж осуществляется преимущественно через бронхиальные и легочные лимфатические сосуды, преимущественно через лимфатические сосуды, расположенные в висцеральной оболочке легких и терминальных бронхах. Подмышечные и шейные лимфатические узлы мало участвуют в процессах, происходящих в легких. Несмотря на это, указанные нами лимфатические узлы, относящиеся к этому региону, также вовлечены в процесс фиброза легких, как мы и предполагали, и даже изменяют структуру при данной патологии.

В настоящее время, по нашему опыту, в результате пневмофиброза и пневмосклероза, возникающих в ткани легких, резкое уменьшение

поверхности висцеральной оболочки приводит к резкому снижению дренажной функции лимфатических сосудов и узлов. В результате различная степень сужения лимфатических сосудов, достигших морфофункционального пассивного состояния, приводит к различной степени задержки тканевой жидкости в интерстиции легочной ткани, хроническим обструктивным и восстановительным заболеваниям легких, развитию легочной гипертензии в пределах малого кровообращения. Именно при этих клинικο-морфологических изменениях возможно возникают разной степени дисфункциональные изменения в регионарных лимфатических узлах.

Это может привести к чрезмерному жировому наполнению в регионарных лимфатических узлах при воздействии диоксида азота в течение 3 месяцев.

Например, у 9-ти месячных крыс капсула подмышечного лимфатического узла имеет почти ту же толщину по сравнению с 6-ти месячным возрастом, возникновение фибросклероза в фиброзной капсуле лимфатического узла и образование макроскопических неровных поверхностных лимфатических узлов. В результате развивается лимфосклероз. Морфологически наличие субкапсулярных ветвей различной ширины, наличие в полости макрофагов, гистиоцитов, ретикулоцитов и плазматических клеток свидетельствуют о продолжении хронического воспалительного процесса в области, обслуживаемой данным лимфатическим узлом. Характеризуется наличием разного размера лимфоидных фолликулов, расположенных в коре лимфатических узлов, слабо сформированных вторичных лимфоидных фолликулов в герминативном центре, строма в этой области огаленная, количество крупных лимфоцитов увеличено.

Для лимфоидных фолликулов характерно разрежение полукруглых лимфоцитов и наличие вокруг них округлых лимфоцитов. В паракортикальной области количество лимфоцитов снижено, в этой области

выявляются участки стромы со склеротическими изменениями. Это означает, что активные ветви области коры лимфатического узла сужаются.

Эндотелий посткапиллярных венул изменяется от высокого вида до нормального эндотелия капилляров, развиваются признаки неравномерной наполненности сосудов, скопление малых лимфоцитов и макрофагов в периваскулярных зонах, определяются плазматические очаги интерстициальной ткани. Это означает, что процесс носит хронический характер. Напоминаем, что эндотелий в стенке посткапиллярных венул, которые расположены в коре лимфатического узла, имеет особый вид с высокой цитоплазмой, и лимфоциты мигрируют по этому сосуду в общий кровоток.

Это, в свою очередь, приводит к лимфосклерозу регионарных лимфатических узлов и снижению дренажной функции при пневмофиброзе, что приводит к инактивации корковых и паракортикальных ветвей коры, являющейся активной областью лимфатического узла. На общем виде при увеличении 40х большая часть лимфоидных фолликулов редуцирована в коре лимфатических узлов, тень герминативного центра небольших размеров, строма голая, неравномерная наполненность в посткапиллярных венулах, признаки плазменный отек в периваскулярных зонах. Большинство Т-лимфоцитов в паракортикальных областях мелкие, по сравнению с контрольной группой определяется уменьшение крупных лимфоцитов. В строме коры выявляются разреженные очаги фиброзной соединительной ткани.

В мозговой области мозговые тяжи иного разветвленного вида, вокруг тяжей обнаружено большое количество макрофагов и ретикулоцитов. Расстояние между тяжами расширено, а размеры пространств в строме увеличены.

Таким образом, у крыс с пневмофиброзом и пневмосклерозом для подмышечных и шейных лимфатических узлов характерно утолщение капсулы лимфатического узла, уменьшение ширины коркового слоя по

сравнению с мозговым слоем, утолщение стенок трабекулярных структур лимфатического узла, ретикулосклероз, резкое уменьшение морфофункционально активных зон и резкое уменьшение количества лимфоцитов вокруг мозговых тяжей в мозговом слое. Оно проявлялось уменьшением, сохранением наполненности посткапиллярных венул в коре, сохранением тромбов плазмы вокруг сосудов, скоплением плазматических клеток, макрофагов и гистиоцитов вокруг тяжей, резким снижением иммунокомпетентных клеток.

С микроскопической точки зрения толщина капсулы различна и определяется, что образовавшиеся из капсулы трабекулы резко утолщены, а в ее составе разрослась однородная грубоволокнистая соединительная ткань. Определяются спайки между фиброзной капсулой и корой лимфатического узла, различная ширина субкапсулярных пространств, резкий разрастание ткани, напоминающей тучные клетки, с бледной цитоплазмой. На внешней стороне капсулы лимфатического узла и в субкапсулярных ветвях определяется большое количество адипоцитов с очаговым ростом. Установлено, что жировая ткань формируется внутри лимфатического узла через трабекулярные структуры и на месте инволютивной коры.

Определен процесс трансформации ретикулоцитов вокруг трабекул в липоциты (трансформация, образование очагов лимфолипоматоза и лимфофиброматоза), что свидетельствует о снижении гемодинамической и лимфодренажной функции в лимфатическом узле, гипоксии в корковых и паракортикальных ветвях, а также со стороны морфофункциональной функции. С точки зрения, эти изменения в регионарных лимфатических узлах параллельны пневмосклерозу, развившемуся в легких является формой морфологического механизма адаптации и рассматривается как следствие каких-либо хронических процессов, приводящих к гипоксии. Лимфоидные фолликулы, сохранившиеся в коре лимфатического узла, имеют овальную форму и небольшие размеры, содержат очень мало лимфоцитов, в

герминативном центре выявляются следы вторичных лимфоидных фолликулов.

По периметру или маргинальной ветви лимфоидных фолликулов собирается небольшое количество лимфоцитов полукруглой формы, вокруг которых выявляются липоциты жировой ткани, образовавшиеся из трабекул, с бледной цитоплазмой. Вокруг лимфоидных фолликулов, в делимфатизированных ветвях, формируется большое количество розовых гомогенных волокнистых склеротических очагов. В результате вокруг фолликулов резко заполняются посткапиллярные венулы, эндотелиальные клетки с высокой цитоплазмой превратились в нормальные эндотелиоциты. В шейных лимфатических узлах, так же как и в подмышечных жировые клетки сначала появляются в соединительнотканной оболочке, окружающей лимфатические узлы. В результате часть жировых клеток прорастает в трабекулы лимфатического узла, занимает место ретикулярной стромы, оттесняет ретикулоэпителиальные клетки и лимфоциты, являющиеся паренхиматозными клетками, и проникает между ними, разрушая и дизгенерируя их.

Кластерное расположение большого количества липоцитов в паракортикальных ветвях коркового слоя привело к изменению гистиоархитектоники кортикальной ветви. В результате в строме коркового слоя определяется образование разреженных и грубых волокнистых структур сетчатого вида. Чрезмерное уменьшение ретикулоэпителиальных клеток выявляется во всех слоях корковой ветви с последующим резким уменьшением лимфоцитов в паренхиме лимфатического узла. Установлено, что в результате прогрессирующей гипоксии в лимфатическом узле продолжается синтез большого количества тропоколлагенов фибробластами и фиброцитами, расположенными вокруг трабекул, с неравномерной пролиферацией грубоволокнистых структур в коре и паркортексе и их непосредственным прикреплением к трабекулярные структуры. Это, в свою очередь, завершается трансформацией ретикулоэпителиальных клеток в

липоциты, служащие матриksom для мезенхимальных клеток, и продолжением трансформации фибробластов фиброзной ткани капсулы лимфатического узла в незрелые липоциты.

Это объясняется снижением дренажной функции ткани и развитием в ней атрофических изменений со снижением функционального состояния лимфатических узлов. Морфологически в ряде случаев в лимфатических узлах, корковом слое и лимфоидных фолликулах не выявляется (делимфатизация), обнаруживается, что паракортикальная область занимает большую площадь.

У белых беспородных крыс в течение трех месяцев наблюдалось прогрессирующее утолщение капсулы лимфатического узла, паракортикальной зоны, трабекул, кортикальной и церебральной зон. Наибольшее увеличение толщины наблюдается у 9-ти месячных крыс, что отражает активный воспалительный процесс и структурные изменения, характерные для развития фиброза. К концу эксперимента изменения достигли максимальных значений.

В других случаях наблюдают, что паракортикальная область расширяется за счет гиперплазии и врастает с одной стороны в продолговатый мозг, а с другой — в корковый слой. В результате определяют, что лимфоидные фолликулы коры сдавлены и уменьшены в размерах, а синусы мозгового вещества за счет сдавления сужены. Очень маленькие размеры лимфоидных фолликулов в коре, наличие мелких вторичных лимфоидных фолликулов в герминативном центре очень маленьких размеров считаются формой реакции толерантности к раздражителям.

Поскольку дренаж лимфатических узлов и нарушения гемодинамики также связаны с усилением гипоксии. У 5-7% всех крыс на сроке 90 дней герминативный центр в лимфоидных фолликулах коркового слоя лимфатического узла имеет разные размеры, и эти изменения связаны преимущественно с отсутствием ретикулярных клеток и макрофагов. Сохранившиеся в центре выявленных лимфоидных фолликулов

идентифицируют как герминативные центры, в состав которых входят преимущественно лимфобласты и центробласты.

В результате резкого снижения числа лимфоцитов наблюдалось резкое уменьшение размеров ретикулоэпителиальных клеток привело к увеличению других типов мезенхимальных клеток. Именно на сроке 90 дней нашего исследования, в результате резкого увеличения жирового и соединительнотканного компонентов в лимфатическом узле, меняется гистиоархитектоника лимфатического узла, и с макроскопической точки зрения усложняется идентификация узлов и напоминает жировую ткань.

На основании анализа полученных выше морфологических изменений установлена специфика морфологических изменений, развивающихся в регионарных лимфатических узлах при пневмофиброзе и пневмосклерозе, индуцированном экспериментальным путем в легочной ткани в сроки 3 мес. А именно, обнаружено увеличение размеров лимфатических узлов, морфофункциональная активность в корковом слое, увеличение размеров лимфоидных фолликулов и их количества. В герминативном центре формировались вторичные лимфоидные фолликулы, в посткапиллярных венах паракортикальных ветвей выявлена миграция лимфоцитов, в лимфатических узлах одних подопытных крыс выявлен лимфаденит (воспаление лимфатического узла), тогда как у других наблюдалась лимфопролиферативная активность, которая заключалась в увеличении размеров фолликулов, в мозговом слое в области мозговых полос выявлялась вариабельная смесь лимфоцитов (предположительно В- и Т-лимфоцитов) в большом количестве. Эти морфологические изменения означают, что клеточная и гуморальная формы иммунной системы стали активными.

В конце нашего эксперимента установлено, что морфофункциональная активность лимфатических узлов сохраняется вследствие хроническом воздействии диоксида азота и формировании пневмосклероза, снижения дренажной функции, снижения гемодинамической активности лимфатических узлов, острой активации ретикулоцитов и фибробластов в

трабекулярной системе и развитию лимфофиброза. Установлено, что количество и размеры лимфоидных фолликулярных клеток в корковых ветвях уменьшены, вторичные герминативные центры бледные, строма обнаженная, количество лимфоцитов в паракортикальных ветвях снижено, а сохранившиеся лимфоциты представлены преимущественно малыми клетками. Установлено, что снижается миграция полноценных лимфоцитов вокруг посткапиллярных венул, трансформация эндотелиальных клеток венул в нормальные эндотелиоциты, образование интерстициальных опухолей и появление очагов липоцитов вокруг трабекулярных структур. Капсула лимфатического узла утолщена, выявляются очаги фибросклероза.

Также в конце эксперимента выявлено резкое снижение дренажно-фильтрационной функции лимфатических узлов. Установлено количество ретикулоэпителиальных клеток паренхимы лимфатического узла, образование гомогенной грубоволокнистой соединительной ткани вокруг трабекулярных структур в большом количестве, разрастание жировой ткани в этих участках, возникновение лимфофибролипоматоза. Морфологические изменения этого типа свидетельствуют о возникновении морфофункционального паралича регионарных лимфатических узлов.

Таким образом, установлено, что пневмосклероз завершается в течение 3 месяцев от начала воздействия диоксида азота на респираторные пути крыс с появлением в лимфатических узлах липоматозных и фиброматозных изменений, наряду с атрофическими и склеротическими изменениями.

Результаты эксперимента по изучению изменений легочной ткани при развитии прогрессирующей фиброзной ткани в легких в экспериментальной группе белых беспородных крыс дали важную информацию о морфологических изменениях регионарных лимфатических узлов. Изменения, наблюдаемые после воздействия фиброзирующих факторов на сроке 90 дней, свидетельствуют об увеличении размеров различных структур лимфатических узлов, что свидетельствует о воспалительных процессах и снижении приспособительных реакций организма.

Результаты эксперимента показывают, что в результате легочного фиброза все структуры лимфатических узлов значительно утолщаются. Наибольшие изменения наблюдаются в капсульной, паракортикальной и кортикальной зонах, что свидетельствует об усилении воспалительного процесса и remodelировании тканей в узлах. Изменения со временем становятся более выраженными, достигая максимума на сроке 90 дней.

После завершения экспериментального моделирования фиброза легких у 6-ти месячных белых беспородных крыс в подмышечных лимфатических узлах экспериментальной группы на сроке 90 дней за счет длительного воздействия отравляющего вещества на респираторные пути крыс были выявлены следующие изменения: после окончания эксперимента размеры составили от 9,1-10,8 мкм, в среднем –  $10,6 \pm 0,08$  мкм, что превышает в 1,7 раз, т.е. на 17,3% больше ( $p < 0,001$ ); диаметр трабекул в группе контроля были от 29,8 мкм до 96,3 мкм, в среднем –  $63,3 \pm 6,62$  мкм, а тот же показатель в группе эксперимента изменился незначительно от 59,2-129,5 мкм, в среднем показатели были почти равны с предыдущим сроком –  $94,35 \pm 4,93$  мкм, можно увидеть увеличение на 14,9% ( $p < 0,001$ ); площадь краевого синуса в группе эксперимента размеры были от 6,3 до 8,7 мкм, в среднем  $7,85 \pm 0,17$  мкм, обнаружилось изменение на 18,4% больше ( $p < 0,001$ ); а площадь мозгового синуса в норме при этом имела размеры от 14,2 мкм до 19,1 мкм, в среднем  $16,18 \pm 0,7$  мкм, а после окончания эксперимента от 20,5 мкм до 23,1 мкм, в среднем  $21,8 \pm 0,29$  мкм, увеличение составляет 13,4% ( $p < 0,001$ ); площадь мозговой зоны в группе эксперимента значения были почти одинаковыми и составили от 252,9 мкм до 567,6 мкм, среднее значение составило  $410,25 \pm 27,7$  мкм.

После завершения экспериментального моделирования фиброза легких у 9-ти месячных белых беспородных крыс в подмышечных лимфатических узлах экспериментальной группы на сроке 90 дней за счет длительного воздействия отравляющего вещества на респираторные пути крыс были выявлены следующие изменения: в толщине стенки капсулы обнаружено

увеличение на 16,1% ( $p < 0,001$ ); паракортикальная зона в норме составила от 144,00 мкм до 358,80 мкм, диаметр трабекул в группе эксперимента изменился, произошло увеличение на 15,5% ( $p < 0,001$ ); площадь краевого синуса в группе контроля составляла в среднем  $5,1 \pm 0,17$  мкм, а в группе эксперимента обнаружилось изменение 7,5-9,1 мкм, в среднем  $8,5 \pm 0,1$  мкм, увеличение на 16,7% ( $p < 0,001$ ); а площадь мозгового синуса в норме при этом имела размеры в среднем  $17,66 \pm 0,4$  мкм, а после окончания эксперимента от 21,1 мкм до 24,3 мкм, в среднем -  $22,7 \pm 0,2$  мкм, увеличение на 12,8% ( $p < 0,001$ ); кортикальная зона увеличилась в норме составили от 232,80 мкм до 546,60 мкм, в среднем –  $324,9 \pm 33,24$  мкм, а в группе эксперимента были от 241,5-566,4 мкм, в среднем показатели составили  $403,94 \pm 22,24$  мкм; площадь мозговой зоны у крыс неподверженных воздействию диоксида азота увеличилась в размере и уже составила от 233,80 мкм до 575,00 мкм, в среднем имела размеры  $340,87 \pm 29,45$  мкм, а в группе эксперимента значения были почти одинаковыми и составили от 266,6-572,5 мкм, среднее значение составило  $419,55 \pm 22,15$  мкм.

При изучении материалов у 12-ти месячных белых беспородных крыс в подмышечных лимфатических узлах экспериментальной группы на сроке 90 дней за счет длительного воздействия отравляющего вещества на дыхательные пути крыс были выявлены следующие изменения: толщина стенки капсулы претерпела изменение, установлено увеличение на 15% ( $p < 0,001$ ); диаметр трабекул в группе контроля были от 57,40 мкм до 152,00 мкм, в среднем –  $72,45 \pm 5,7$  мкм, а тот же показатель в группе эксперимента изменился незначительно от 76,9 мкм до 139,1 мкм, в среднем показатели были равны  $108 \pm 3,95$  мкм, увеличение на 14,9% ( $p < 0,001$ ); площадь краевого синуса в группе контроля составляла в среднем  $6,05 \pm 0,19$  мкм, а в группе эксперимента обнаружилось изменение от 7,7 мкм до 10,6 мкм, в среднем  $9,15 \pm 0,2$ , увеличение на 15,1% ( $p < 0,001$ ); а площадь мозгового синуса в норме при этом имела размеры в среднем  $19,65 \pm 0,47$  мкм, а после окончания

эксперимента от 23,5 мкм до 26,1 мкм, в среднем значении  $24,8 \pm 0,17$  мкм, увеличение на 12,6% ( $p < 0,01$ ).

При рассмотрении шейных лимфатических узлов тех же 6-ти месячных белых беспородных крыс контрольной и экспериментальной групп на сроке 90 дней обнаружались следующие показатели: толщина стенки капсулы регионарных лимфатических узлов в норме была от 4,9 мкм до 5,5 мкм, в среднем  $5,2 \pm 0,07$  мкм, а после окончания эксперимента размеры составили от 8,1 мкм до 10,3 мкм, в среднем –  $9,84 \pm 0,14$  мкм, увеличение на 18,9% ( $p < 0,001$ ); диаметр трабекул в группе контроля были от 31,4 мкм до 102,6 мкм, в среднем –  $67 \pm 6,54$  мкм, а тот же показатель в группе эксперимента изменился незначительно от 49,2-119,5 мкм, в среднем –  $84,35 \pm 4,75$  мкм; площадь краевого синуса в группе контроля составляла от 2,2 мкм до 4,8 мкм, в среднем  $3,5 \pm 0,23$  мкм, а в группе эксперимента обнаружилось изменение 6,0-7,8 мкм, в среднем  $7,4 \pm 0,1$  мкм, увеличение на 21,1% ( $p < 0,001$ ); а площадь мозгового синуса в норме при этом имела размеры от 9,6 мкм до 11,2 мкм, в среднем  $10,43 \pm 0,17$  мкм, а после окончания эксперимента 17,3-20,2 мкм, в среднем  $18,96 \pm 0,23$  мкм, увеличение на 18,1% ( $p < 0,001$ ); кортикальная зона в норме составили от 196,6 мкм до 492,2 мкм, в среднем –  $259,53 \pm 28,04$  мкм, а в группе эксперимента были от 238,3 мкм до 548,8 мкм, в среднем показатели составили  $393,55 \pm 22,7$  мкм, увеличение на 15,1% ( $p < 0,001$ ).

Также выявлены у 9-ти месячных белых беспородных крыс в шейных лимфатических узлах следующие изменения: толщины стенки капсулы в норме имела размеры от 6,5 мкм до 7,1 мкм, в среднем  $6,1 \pm 0,05$  мкм, а после окончания эксперимента в шейных лимфатических узлах размеры составили от 9,4 мкм до 11,5 мкм, в среднем –  $10,45 \pm 0,14$  мкм, увеличение на 17,1% ( $p < 0,001$ ); паракортикальная зона в норме составила от 144,00 мкм до 358,80 мкм, в среднем имела размеры  $184,7 \pm 18,07$  мкм, а после воздействия диоксида азота на респираторные пути подопытных животных размеры составили от 143,40 мкм до 357,85 мкм, в среднем –  $229,25 \pm 13,7$  мкм;

диаметр трабекул в группе контроля были от 57,40 мкм до 152,00 мкм, в среднем –  $73 \pm 5,91$  мкм, а тот же показатель в группе эксперимента изменился незначительно от 52,3 мкм до 126,7 мкм, в среднем показатели были почти равны с предыдущим сроком –  $89 \pm 4,25$  мкм; площадь краевого синуса в группе контроля составляла в среднем  $4,15 \pm 0,2$  мкм, а в группе эксперимента обнаружилось изменение от 6,9 мкм до 8,7 мкм, в среднем  $7,8 \pm 0,12$  мкм, увеличение на 18,8% ( $p < 0,001$ ); а площадь мозгового синуса в норме при этом имела размеры в среднем  $11,15 \pm 0,13$  мкм, а после окончания эксперимента от 19,1 мкм до 20,7 мкм, в среднем –  $19,68 \pm 0,12$  мкм, увеличение на 17,6% ( $p < 0,001$ ); площадь мозговой зоны у крыс неподверженных воздействию диоксида азота были в размере от 233,80 мкм до 575,00 мкм, в среднем имела размеры  $345,43 \pm 25,8$  мкм, а в группе эксперимента значения были от 255,6 мкм до 566,5 мкм, среднее значение составило  $411,05 \pm 21,95$  мкм.

Также изменения фиксировали при сравнении шейных лимфатических узлов 12-ти месячных белых беспородных крыс группы контроля и экспериментальной группы на сроке 90 дней за счет воздействия отравляющего вещества, а именно выявлены показатели толщины стенки капсулы в норме составляли от 6,1 мкм до 7,2 мкм, в среднем –  $6,65 \pm 0,11$  мкм, а после окончания эксперимента в шейных лимфатических узлах размеры составили от 10,5 мкм до 11,9 мкм, в среднем –  $10,92 \pm 0,08$  мкм, увеличение на 16,4% ( $p < 0,001$ ); площадь краевого синуса в группе контроля составляла от 4,2 мкм до 5,8 мкм, в среднем  $5 \pm 0,16$  мкм, а в группе эксперимента обнаружилось изменение 7,1-9,3 мкм, в среднем  $8,2 \pm 0,13$ , увеличение на 16,4% ( $p < 0,001$ ); а площадь мозгового синуса в норме при этом имела размеры от 11,3 мкм до 14,1 мкм, в среднем  $12,7 \pm 0,3$  мкм, а после окончания эксперимента от 20,5 мкм до 22,4 мкм, в среднем  $20,635 \pm 0,09$  мкм, увеличение на 16,2% ( $p < 0,001$ ); площадь мозговой зоны у крыс неподверженных воздействию диоксида азота увеличилась в размере и уже составила от 224,3-541,8 мкм, в среднем имела размеры  $348,02 \pm 29,5$  мкм, а в

группе эксперимента значения были почти одинаковыми и составили от 269,7-571,4 мкм, среднее значение составило  $420,55 \pm 20,37$  мкм.

По экспериментальным данным диаметр герминативных центров подмышечных лимфатических узлов белых беспородных крыс в контрольной группе составлял 115,40-327,80 мкм (в среднем  $221,50 \pm 0,75$  мкм), в экспериментальных группах с пневмосклерозом эти показатели составляли у 6-ти месячных крыс 91,4-243,8 мкм (в среднем  $167,6 \pm 9,38$  мкм), у 9-ти месячных крыс 86,2-228,7 мкм (в среднем  $157,45 \pm 8,66$  мкм) и у 12-ти месячных крыс 74,2-212,7 мкм (в среднем  $143,45 \pm 10,08$  мкм). Эти результаты свидетельствуют об уменьшении диаметра зародышевых центров лимфатических узлов при пневмосклерозе. Поэтому в патогенезе пневмосклероза важное значение имеют реакция лимфатической системы и изменения иммунного ответа.

Таким образом, по результатам нашего исследования определили, что прогрессирующий фиброз легких вызывает значительные морфологические изменения в регионарных лимфатических узлах у белых крыс в процессе развития ткани, что проявляется утолщением капсулы, увеличением размеров паракортикальная зона, трабекулы и корковая зона. Эти изменения отражают адаптационные механизмы организма в ответ на воспалительный процесс и повреждение легочной ткани. Эти результаты могут быть полезны для дальнейшего понимания патофизиологии пневмосклероза и разработки новых подходов к его лечению.

После проведения иммуногистохимии было выявлено, что экспрессия маркера **Bcl-2** в тканях подмышечных и шейных лимфатических узлов 6-месячных белых беспородных крыс была существенно выше в экспериментальной группе по сравнению с контрольной (22,69% против 7,43%). Это свидетельствует о усилении антиапоптотической активности в клетках лимфоузлов под воздействием экспериментального фактора.

Экспрессия маркера **Bcl-2** в подмышечных и шейных лимфатических узлах 9-месячных крыс экспериментальной группы была значительно

выше, чем в контрольной группе — **22,01% против 6,43%**. Несмотря на то, что обе группы характеризуются низким уровнем экспрессии, в экспериментальной группе наблюдается **более чем трёхкратное увеличение количества Vcl-2-позитивных клеток**.

Это может указывать на **усиление антиапоптотической активности** в подмышечных и шейных лимфатических узлах под воздействием экспериментального фактора. Повышенная экспрессия Vcl-2 может свидетельствовать о включении защитных механизмов клеток, направленных на предотвращение апоптоза в условиях воздействия, моделируемых в эксперименте.

Экспрессия маркера **Vcl-2** в подмышечных и шейных лимфатических узлах 12-месячных крыс экспериментальной группы была значительно выше, чем у контрольной (21.16% против 4.32%). Несмотря на общий низкий уровень экспрессии Vcl-2, наблюдается более чем пятикратное увеличение доли позитивных клеток в экспериментальной группе. Это говорит о **существенном усилении антиапоптотической активности** в лимфатических узлах под влиянием экспериментального воздействия. Такое повышение экспрессии может отражать адаптационные процессы, направленные на повышение выживаемости клеток и подавление апоптоза.

При сравнении структур подмышечных лимфатических узлов экспериментальной группы до коррекции и после коррекции маслом косточек граната, можно отметить, что в группе после коррекции маслом косточек граната наблюдается незначительное уменьшение значений капсулы узла, паракортикальной зоны, краевого и мозгового синусов, диаметра трабекул, коркового и мозгового вещества, что, по-видимому, связано с большой эффективностью масла косточек граната в восстановлении структурно-функциональной организации региона сбора и транспорта лимфы.

**Таблица 1**

**Показатели морфометрических изменений подмышечных лимфатических узлов при фиброзе легких и с коррекцией маслом косточек граната у 6-ти месячных крыс (мкм),  $M \pm m$**

№	Параметры	группа эксперимента (n=20)	группа после коррекции (n=18)
1	Толщина капсулы	10,6±0,08	9,13±0,17***
2	Толщина паракортикальной зоны	228,85±14,5	213,44±13,01
3	Диаметр трабекул	94,35±4,93	63,3±4,73***
4	Толщина кортикальной зоны	393,55±22,7	344,45±18,5
5	Площадь краевого синуса	7,85±0,17	4,25±0,05***
6	Толщина мозговой зоны	410,25 ±27,7	364,65 ±22,87
7	Площадь мозгового синуса	21,8±0,29	16,65±0,56***
8	Площадь лимфоидного фолликула	167,6±9,38	209,1±15,3*

**Примечание:** \* - $p < 0,05$ ; \*\*\* - $p < 0,001$ ; достоверность различий в сравнении с предыдущей группой

Таблица 2

**Показатели морфометрических изменений подмышечных лимфатических узлов при фиброзе легких и с коррекцией маслом косточек граната у 9-ти месячных крыс (мкм),  $M \pm m$**

№	Параметры	группа эксперимента (n=20)	группа после коррекции (n=18)
1	Толщина капсулы	10,6±0,08	9,95±0,09***
2	Толщина паракортикальной зоны	228,85±14,5	234±13,84
3	Диаметр трабекул	94,35±4,93	94,5±3,93
4	Толщина кортикальной зоны	393,55±22,7	395,95±23,43
5	Площадь краевого синуса	7,85±0,17	8,15±0,1
6	Толщина мозговой зоны	410,25 ±27,7	414,05±18,95
7	Площадь мозгового синуса	21,8±0,29	21,73±0,18
8	Площадь лимфоидного фолликула	167,6±9,38	167,42±12,79

**Примечание:** \*\*\*- $p < 0,001$ ; достоверность различий в сравнении с предыдущей группой

**Показатели морфометрических изменений подмышечных лимфатических узлов при фиброзе легких и с коррекцией маслом косточек граната у 12-ти месячных крыс (мкм),  $M \pm m$**

№	Параметры	группа эксперимента (n=20)	группа после коррекции (n=20)
1	Толщина капсулы	11,6±0,1	11,51±0,08
2	Толщина паракортикальной зоны	251,3±14,79	242,3±14,36
3	Диаметр трабекул	108±3,95	98,7±4,29
4	Толщина кортикальной зоны	417,7±21,31	402,7±19,67
5	Площадь краевого синуса	9,15±0,2	9,07±0,2***
6	Толщина мозговой зоны	434,2 ±18,9	419,45±20,18
7	Площадь мозгового синуса	24,8±0,17	24,37±0,17
8	Площадь лимфоидного фолликула	143,45±10,08	163,6±9,22

**Примечание:** \*\*\*- $p < 0,001$ ; достоверность различий в сравнении с предыдущей группой

При таком же сравнении структур шейных лимфатических узлов экспериментальной группы до коррекции и после коррекции маслом косточек граната, отмечаются некоторые изменения в группе после коррекции маслом косточек граната. Отмечено незначительное улучшение паракортикальной зоны, краевого и мозговых синусов, диаметра трабекул, коркового и мозгового вещества. Это можно объяснить большим содержанием в составе масла косточек граната антиоксидантных компонентов, а именно пуниковой (гранатовой) кислоты (80-85%), что помогает в восстановлении структурно-функциональной работе лимфатической системы в целом.

Преимущественный эффект масла косточек граната объясняется тем, что оно содержит олеиновую и пальмитиновую кислоты, которые обладают высоким антиоксидантным свойством, превышающую суточную норму почти в 3 раза. Это способствует улучшению микроциркуляции и восстановлению других морфофункциональных параметров.

**Таблица 4**

**Показатели морфометрических изменений шейных лимфатических узлов при фиброзе легких и с коррекцией маслом косточек граната у 6-ти месячных крыс (мкм),  $M \pm m$**

№	Параметры	группа эксперимента (n=20)	группа после коррекции (n=18)
1	Толщина капсулы	9,84±0,14	8,2±0,05***
2	Толщина паракортикальной зоны	218,2±14	206,7±12,09
3	Диаметр трабекул	84,35±4,75	81,35±4,5
4	Толщина кортикальной зоны	393,55±22,7	383,55±14,64
5	Площадь краевого синуса	7,4±0,1	6,7±0,12***
6	Толщина мозговой зоны	403 ±23,6	400,3 ±17,9
7	Площадь мозгового синуса	18,96±0,23	16,75±0,37***
8	Площадь лимфоидного фолликула	180,1±10,54	170,54±12,64

Примечание: \*\*\*- $p < 0,001$ ; достоверность различий в сравнении с предыдущей группой

Таблица 5

**Показатели морфометрических изменений шейных лимфатических узлов при фиброзе легких и с коррекцией маслом косточек граната у 9-ти месячных крыс (мкм),  $M \pm m$**

№	Параметры	группа эксперимента (n=20)	группа после коррекции (n=18)
1	Толщина капсулы	10,6±0,08	9,45±0,17***
2	Толщина паракортикальной зоны	228,85±14,5	219,05±10,17
3	Диаметр трабекул	94,35±4,93	84,2±3,56
4	Толщина кортикальной зоны	393,55±22,7	393,95±16,43
5	Площадь краевого синуса	7,85±0,17	7,7±0,13***
6	Толщина мозговой зоны	410,25 ±27,7	408,21 ±20,42
7	Площадь мозгового синуса	21,8±0,29	17,9±0,27***
8	Площадь лимфоидного фолликула	167,6±9,38	185,3±8,9

Примечание: \*\*\*- $p < 0,001$ ; достоверность различий в сравнении с предыдущей группой

Таблица 6

**Показатели морфометрических изменений шейных лимфатических узлов при фиброзе легких и с коррекцией маслом косточек граната у 12-ти месячных крыс (мкм),  $M \pm m$**

№	Параметры	группа эксперимента (n=20)	группа после коррекции (n=20)
1	Толщина капсулы	10,92±0,08	10,6±0,1*
2	Толщина паракортикальной зоны	240,25±13,94	226,85±12,22
3	Диаметр трабекул	98±4,24	99,5±4,9
4	Толщина кортикальной зоны	417,17±21,19	407,7±18,54
5	Площадь краевого синуса	8,2±0,13	7,95±0,14
6	Толщина мозговой зоны	420,55 ±20,37	416,6 ±18,88
7	Площадь мозгового синуса	20,635±0,09	20,2±0,27
8	Площадь лимфоидного фолликула	175,6±9,36	179,1±10,76

*Примечание: \* - $p < 0,05$ ; достоверность различий в сравнении с предыдущей группой*

В ходе исследования выявлено, что маркер Bcl-2, отвечающий за подавление апоптоза, экспрессируется на низком уровне в тканях подмышечных и шейных лимфатических узлов белых беспородных крыс после коррекции. У 6-месячных и 12-месячных крыс в подмышечных и шейных лимфатических узлах доля Bcl-2-позитивных клеток составляет примерно 11–13%, тогда как у 9-месячных крыс в подмышечных лимфатических узлах этот показатель ниже — около 10%.

Такая экспрессия свидетельствует о сохранении умеренного уровня антиапоптотической активности, что может указывать на частичное усиление клеточной выживаемости и положительное влияние коррекции на процессы

регуляции клеточного гибели. Различия в уровне экспрессии между возрастными группами могут отражать возрастные особенности реакции лимфатической ткани на коррекцию.

Таким образом, коррекция способствует поддержанию клеточного гомеостаза и может способствовать улучшению иммунной функции лимфатических узлов, особенно в молодом и среднем возрасте крыс.

## ВЫВОДЫ

1. На протяжении постнатального онтогенеза вместе с возрастом увеличивается морфометрические параметры регионарных лимфатических узлов. Так, толщина капсулы подмышечных и шейных лимфоузлов достоверно увеличивается на 12,7%, площадь мозговых синусов на 21,4% и 21,7% соответственно, площадь краевых синусов на 42,4% и 42,8%, толщина мозговой зоны расширяется на 12% и 13%. Вместе с этим площадь лимфоидных фолликулов обеих узлов, наоборот снижается, что говорит о функциональном понижении иммунных структур лимфатических узлов.

2. Легочной фиброз во всех возрастных группах вызывает выраженные морфометрические изменения в подмышечных и шейных лимфатических узлах. Отмечено увеличение толщины капсулы на 49,7%, паракортикальной зоны — на 22-26,4%, трабекул — на 20-55,1%, кортикальной зоны — на 23,9-27%, мозговой зоны — на 19,5-26,3%, площади краевого синуса — на 51,2-84,7%, мозгового синуса — на 26,2-34,8%. Вместе с этим выявлено снижение площади лимфоидных фолликулов на 12-39,2%, что говорит об угнетении защитных функций органа. Наиболее выраженные изменения наблюдаются у 6-месячных животных, что указывает на высокую реактивность лимфоидной ткани в раннем периоде онтогенеза.

3. Иммуногистохимические изменения в подмышечных и шейных лимфатических узлах показали, что в группе эксперимента во всех возрастных периодах определялась высокая экспрессия маркера Bcl-2 в отличие от группы контроля. Экспрессия была обнаружена в основном в лимфоцитах, и средний показатель экспрессии составил 22,61% - у 6-ти месячных, 22,01% - у 9-ти месячных и 21,16% - у 12-ти месячных крыс, что обусловлено снижением процесса апоптоза за счет образования фиброзной ткани.

4. В эксперименте после коррекции последствий фиброза лёгких с применением масла косточек граната выявлено значительное снижение морфометрических показателей в подмышечных и шейных лимфатических

узлах. Так, толщина капсулы уменьшилась в среднем на 11,6%, площадь мозговых синусов — на 13%, краевых синусов — на 18,4%, а диаметр трабекул сократился на 15% по сравнению с экспериментальной группой. Это свидетельствует о выраженном корреляционном эффекте масла косточек граната на структурные параметры лимфатических узлов при экспериментальном фиброзе лёгких, что указывает на его потенциальное терапевтическое действие в снижении фибротических процессов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеев, С. Н. /Идиопатический легочный фиброз: новые международные клинические рекомендации // Пульмонология. 2019. №29 (5). С. 525–552.
2. Айтбаев К.А. и др. /Легочный фиброз как последствие пандемии covid-19 // Бюллетень науки и практики. 2021. №5. – С.204-215
3. Азарёнок М. К. и др. /Рандомизированное исследование эффективности компонентов реабилитации и уровня фрагмента цитокератина 19 (CYFRA 21-1) как предиктора развития интерстициального фиброза легких у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию//Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2024. – Т. 23. №. 1. – С. 58-67.
4. Анаев, Э. Х. /Современные представления об идиопатическом легочном фиброзе: в фокусе - биомаркеры // Пульмонология. – 2017. – Т. 27, № 1. – С. 56-64.
5. Асадов Б.С., Тешаев Ш.Ж. /Положительное влияние масла семян граната на уменьшенное количества клеток лейдига в семенниках по причине экспериментального фиброза легких// 2024. №1(7). – С.3-11.
6. Барноев А.И. /Сравнительная классификация морфометрических показателей тонкой кишки при экспериментальном легочном фиброзе//Автореф. от диссерт. 2024. – С.27-46.
7. Бекетов В., Мухин Н., Попова Е. [и др.] /Трудности диагностики интерстициальной болезни легких // Врач. – 2016. – № 2. – С. 9-10.
8. Биличенко Т. Н. /Постковидный синдром: факторы риска, патогенез, диагностика и лечение пациентов с поражением органов дыхания после COVID-19 (обзор исследований)// Рус. мед. журн. 2022. Т. 6, № 7. С. 367–375.
9. Бяхова В.А., Тюрин И.Е. /Внутрилегочные лимфатические узлы у пациентов с солидными опухолями внелегочной локализации.

- Онкологический журнал: лучевая диагностика, лучевая терапия. 2024; 7(2). С.46-54.
10. Волков В.П. /К вопросу о морфометрической оценке функциональной иммуноморфологии лимфоузлов: обзор литературы и новый алгоритм // Universum: медицина и фармакология. 2015. №7-8 (19). С.1-15.
11. Гильметдинов А.Ф. и др. /История изучения внутригрудных лимфоузлов при раке легкого // ПМ. 2017. №4 (105). – С.33-38.
12. Горчакова О.В. и др. /Морфологические особенности лимфоузла, претерпевшего возрастные изменения, после озono- и фитотерапии // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 12-9. – С. 1613-1616.
13. Горчакова О.В., Горчаков В.Н. /Структура лимфоузлов и лимфоидный генез на этапе позднего онтогенеза после фитотерапии// Вестник лимфологии, № 4, 2014. Стр. 13-21.
14. Гусейнов Т.С. /Актуальные и спорные вопросы лимфологии (Обзорная лекция) // Re-health journal. 2019. №2. – С.22-37
15. Давидовская Е. И., Богуш Л. С., Лукашевич А. А. [и др.] /Алгоритм выбора тактики лечения пациентов с интерстициальными легочными болезнями с развитием фиброза (результаты клинической апробации)// Рецепт. – 2023. – Т. 26, № 2. – С. 143-157.
16. Золотницкая В.П. /Нарушения легочного кровообращения при хронической обструктивной патологии легких// Автореф 2017. С.14-31.
17. Золотницкая В. П. [и др.] /Долгосрочные последствия COVID-19 у пациентов по данным функционально-лучевых исследований легких// РМЖ. Мед. обозрение. 2022. Т. 6, № 7. С.360–366.
18. Игнатова Г. Л. и др. /Эффективность раннего назначения антифибротической терапии как отражение правильной организации медицинской помощи пациентам с прогрессирующим легочным фиброзом // Пульмонология. – 2024. – Т. 34. – №. 1. – С. 115-120.

19. Каленчиц Т.И., Кабак С.Л., Кореневская И.В. /Легочный фиброз как исход COVID-19 пневмонии// Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук. 2021;18(4). – С.413-421.
20. Каримова М.Ш. /Морфофункциональные особенности строения клеточных структур щитовидной железы при экспериментальном пневмосклерозе легких//Автореф. от диссерт. 2024. С.30-38.
21. Клочкова С. В., Алексеева Н. Т., Кварацхелия А. Г., Никитюк Д. Б., Баженов Д. В. /Структурная характеристика брыжеечных лимфатических узлов крыс при остром эмоциональном стрессе// Журнал анатомии и гистопатологии 2017. т. 6, № 3. – Стр. 33-37.
22. Косолапов В.А., Литвинов Р.А., Спасов А.А. /Экспериментальные модели фиброза// Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2024. – Т. 21.№. 3. – С. 39-47.
23. Кузубова Н. А., Титова О. Н., Склярова Д. Б. /Интерстициальные заболевания легких с прогрессирующим легочным фиброзом: патогенетические особенности и подходы к терапии// Медицинский совет. 2020. №17. – С. 99-106.
24. Кузубова Н.А., Титова О.Н., Лебедева Е.С., Волчкова Е.В. /Легочный фиброз, ассоциированный с COVID-19// РМЖ. Медицинское обозрение. 2021;5(7). – С. 492-496.
25. Лукашевич А. А. и др. /Клиническая и морфологическая характеристики различных паттернов фиброза легких при идиопатических интерстициальных пневмониях// БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: Рецензируемый ежегодный сборник научных трудов. В 2-х томах. Том 1. Выпуск 12. – Минск: Белорусский государственный медицинский университет, 2022. – С. 66-72.
26. Лукашевич А. А. и др. /Оценка вероятности прогрессирования фиброза легких у пациентов с интерстициальными болезнями легких для определения дальнейшей тактики лечения //Туберкулез и болезни легких. – 2024. – Т. 102. – №. 3. – С. 34-40.

27. Мановицкая Н. В., Антонова Н. П. /Идиопатический легочный фиброз : учебно-методическое пособие // Минск : БГМУ, 2022. – С.1-24.
28. Мкртчян Г.Б. /Оценка эффективности детекции сигнальных лимфатических узлов методом флуоресценции у больных раком шейки матки// Автореф. 2019. – С. 7-26.
29. Мукашев М.Ш., Турганбаев А.Э., Токтосун уулу Б. /Влияние COVID-19 на морфофункциональное состояние (перибронхиальных) лимфатических узлах легких// Здоровоохранение Кыргызстана 2022, No 4, С.26-31.
30. Намаканова О.А., Губернаторова Е.О., Чичерина Н.Р., Зварцев Р.В., Друцкая М.С. /Экспериментальная модель легочного фиброза у мышей, индуцированная посредством аэрозольной доставки Irs.// Российский иммунологический журнал 2024, Т. 27, № 2, стр. 145-150.
31. Нуралиев Н.А., Бектимиров А., Алимова М.Т., Суванов К.Ж. «Правила и методы работы с лабораторными животными при микробиологических и иммунологических исследованиях», Методическое пособие, 2016 года. С.1-33.
32. Николенко В.Н, Шугаева К.Я., Гусейнов Т.С. /Современные представления о структурно-функциональной организации лимфатической системы в физиологических условиях и при патологии // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2016. – № 1. – С. 37-39.
33. Никифорова Е.Л. /Топография лимфатических узлов вокруг правого главного бронха // Вестник медицинского института «Реавиз»: реабилитация, врач и здоровье. 2022. №2 (56) Special Issue. С.167-168.
34. Обухова Т. Ю. И др. /Прогнозирование риска развития профессионального легочного фиброза на фоне сердечно-сосудистой патологии у рабочих асбестообогатительного производства // Уральский медицинский журнал. – 2020. – № 8(191). – С. 140-146.
35. Павлов П. И. и др. /Интерстициальные заболевания легких// Во имя здоровья нации. Чебоксары, 21–22 сентября 2021 года: Чувашский

- государственный университет имени И.Н. Ульянова, 2021. – С. 100-106.
36. Панькова М. Н., Лобов Г. И. /Лимфангиогенез и особенности лимфатического дренажа в различных органах. Значение для судьбы трансплантата //Российский физиологический журнал им. ИМ Сеченова. – 2021. – Т. 107. – №. 9. – С. 1077–1099.
- 37.Петренко В.М. /Развитие представлений о лимфатической системе // Инновационная наука. 2015. №7-2. – С. 147-149.
- 38.Петренко В.М. /О конституции иммунной (лимфоидной) системы (обзор литературы) // Известия вузов. Поволжский регион. Медицинские науки. 2019. №2 (50). – С. 89-99.
- 39.Петренко В.М. /И снова о лимфатической системе и лимфологии // Инновационная наука. 2016. №6-3. – С. 192-194.
- 40.Петренко В.М. /Лимфатическая система и организация иммунитета // Инновационная наука. 2017. №9. – С. 68-70.
- 41.Раджабов Н.Г. /Уровень экспрессии иммуногистохимических маркеров cd-45 и ki-67 в ткани сердца при экспериментальном пневмосклерозе после коррекции маслом косточек граната// 2024. International Journal of Medical Sciences 4 (12). – С. 18-24.
- 42.Савченко М. А. и др. /Затяжное течение новой коронавирусной инфекции с формированием легочного фиброза у ВИЧ-инфицированной больной //Журнал инфектологии. – 2024. – Т. 16. – №. 1. – С. 87-93.
- 43.Семенова А. Х. и др. /Клинические и морфологические особенности лимфаденопатии средостения при гранулематозных заболеваниях легких // Пульмонология. – 2019. – Т. 29, № 6. – С. 685-694.
- 44.Сперанская А. А. и др. /Лучевая и морфологическая картина фиброзирующих болезней легких: от ранних признаков до исхода // Лучевая диагностика и терапия. – 2020. – № 2(11). – С. 89-98.

- 45.Толибов Ф. /Иммунная система: анатомия лимфатической системы и механизмы иммунного ответа// Журнал академических исследований нового Узбекистана. – 2024. – Т. 1. – №. 2. – С. 55-58.
- 46.Фролова И. Г. и др. /MALT-лимфома с поражением лёгких, плевры и внутригрудных лимфатических узлов: клиническое наблюдение// Онкологический журнал: лучевая диагностика, лучевая терапия. – 2018. – Т. 1, № 4. – С. 92-100.
- 47.Хасанов Б.Б. /Современные представления о структурно-функциональных особенностях лимфатических узлов// Достижения науки и образования. 2022. №5 (85). – С. 1-4.
- 48.Чучалин А.Г. /Фиброз легких у больных, перенесших COVID-19// Терапевтический архив. 2022. №11. – С.1333-1339.
- 49.Шостак Н. А., Клименко А. А., Кондрашов А. А. /Интерстициальные заболевания легких: ключевые мишени для терапии // Клиницист. 2017. №3-4. – С.10-16.
- 50.Ширинов М.М. /Сравнительная характеристика морфометрических параметров желудка при экспериментальном фиброзе легких// Автореф. от диссерт. 2024. – С.35-44.
- 51.Щепихин Е. И., Шмелёв Е. И., Эргешов А. Э. /Перспективная роль онкомаркеров СА 19-9 и СА 125 в диагностике прогрессирующего фиброза легких //Уральский медицинский журнал. 2024. № 1 (23). – С.37-45.
- 52.Adegunsoye A. et al. /Prognosticating Outcomes in Interstitial Lung Disease by Mediastinal Lymph Node Assessment. An Observational Cohort Study with Independent Validation// Am J Respir Crit Care Med. 2019 Mar 15;199(6): P.747-759.
- 53.Akter, T.; Atanelishvili, I.; Silver, R.M.; Bogatkevich, G.S. /IQGAP1 Regulates Actin Polymerization and Contributes to Bleomycin-Induced Lung Fibrosis// *Int. J. Mol. Sci.* 2024, 25, P.2-12.

54. Alain Lescoat et al. /Interstitial Lung Disease and Mediastinal Lymph Nodes: A Computed Tomography–based Biomarker beyond Nosological and Etiological Borders?// American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine Epub 2019 Oct 8. P.1-4.
55. Alison E. J. [et al.] COVID 19 and pulmonary fibrosis: A potential role for lung epithelial cells and fibroblasts // Immunol. Rev. 2021 Jul. Vol. 302, N 1. P. 228–240.
56. Alrajhi Nuha Nasser. /Post-COVID-19 pulmonary fibrosis: An ongoing concern. // Annals of Thoracic Medicine 18(4): 2023, p.173–181.
57. Ambardar S. R. [et al.] /Post-COVID-19 Pulmonary Fibrosis: Novel Sequelae of the Current Pandemic. // J. Clin. Med. 2021 Jun. Vol. 10, N 11. Art. 2452. P.2-12.
58. Barnoev A.I., Khasanova D.A. /Creation of an experimental model of pulmonary fibrosis in rats and its consequences //Conferencea. – 2023. – P. 43-46.
59. Barnoev A.I., Khasanova D.A. /Microscopic features of the structure of the small intestine of rats with pulmonary fibrosis. // International conference of advance research in Humanities, (28, October, 2023). – P. 65–68.
60. Barnoev A.I., Khasanova D.A. /Pulmonary fibrosis as a consequence of COVID-19. // E Global Congress, (2023). №10, P.30–34.
61. Behr J. et al. /Exploring efficacy and safety of oral Pirfenidone for progressive, non-IPF lung fibrosis (RELIEF)-a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel group, multi-center, phase II trial // BMC pulmonary medicine. – 2017. – T. 17. – C. 1-9.
62. Bogoslawski A, Kubes P. /Lymph Nodes: The Unrecognized Barrier against Pathogens. // ACS Infect Dis. 2018 Aug 10;4(8): P.1158-1161.
63. Brownell R. et al. /Precision Medicine: The New Frontier in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. // Am J Respir Crit Care Med. 2016 Jun 1;193(11): P. 1213-1218.

64. Cakala-Jakimowicz M, Kolodziej-Wojnar P, Puzianowska-Kuznicka M. /Aging-Related Cellular, Structural and Functional Changes in the Lymph Nodes: A Significant Component of Immunosenescence? An Overview. // Cells. 2021 Nov 12;10(11): P.3-23.
65. Chai Q, et al. /Maturation of lymph node fibroblastic reticular cells from myofibroblastic precursors is critical for antiviral immunity. // Immunity. 2013 May 23;38(5): P.1013-1024.
66. Chang JE, Turley SJ. /Stromal infrastructure of the lymph node and coordination of immunity. // Trends Immunol. 2015 Jan;36(1): P.30-39.
67. Chang C. H. [et al.] /Reversal of lung fibrosis: An unexpected finding in survivor of acute respiratory distress syndrome // An International journal of medicine (QJM). 2018 Jan. Vol. 111, № 1. P. 47–48.
68. Cohen J.N, Tewalt E.F, Rouhani S.J, Buonomo E.L, Bruce A.N, Xu X., et al. /Tolerogenic Properties of Lymphatic Endothelial Cells Are Controlled by the Lymph Node Microenvironment. // (2014) №9(2): e87740. P.2-13.
69. Cottin Vincent et al. / Fibrosing interstitial lung diseases: knowns and unknowns//Eur Respir Rev 2019; 28: P.2-9.
70. Cuccurullo V, Rapa M, Catalfamo B, Cascini GL. /Role of Nuclear Sentinel Lymph Node Mapping Compared to New Alternative Imaging Methods. // J Pers Med. 2023 Jul 31;13(8):1219. P.2-15.
71. Cupedo T, Mebius RE. /Cellular interactions in lymph node development. // J Immunol. 2005 Jan 1;174(1): P.21-25.
72. Deng J. et al. /Effects of Natural Products through Inhibiting Endoplasmic Reticulum Stress on Attenuation of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. // Drug Des Devel Ther. 2024 May 17;18: P.1627-1650.
73. Dobaño-López C. et al. /Patient-derived follicular lymphoma spheroids recapitulate lymph node signaling and immune profile uncovering galectin-9 as a novel immunotherapeutic target. // Blood Cancer J. 2024 May 2;14(1): P.1-14.

74. Farghaly S. [et al.] /Clinical characteristics and outcomes of post-COVID-19 pulmonary fibrosis. A case-control study // *Medicine (Baltimore)*. 2022 Jan. Vol. 101, N 3. Art. e28639. P.1-7.
75. Fletcher A.L., Acton S.E., Knoblich K. /Lymph node fibroblastic reticular cells in health and disease. // *Nat Rev Immunol*. 2015 Jun;15(6): P.350-361.
76. Fox S. E. et al. /Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans // *The Lancet Respiratory Medicine*. – 2020. – T. 8. – №. 7. – P. 681-686.
77. George P.M. et al. /Respiratory follow-up of patients with COVID-19 pneumonia. // *Thorax*. 2020 Nov;75(11): P.1009-1016.
78. Giacomo Sgalla et al. /Mediastinal lymph node enlargement in idiopathic pulmonary fibrosis: relationships with disease progression and pulmonary function trends// *BMC Pulmonary Medicine*, 20.249. P.2-10.
79. Goorsenberg A. et al. // *Advances in optical coherence tomography and confocal laser endomicroscopy in pulmonary diseases*// 2020;99(3): P.190-205.
80. Gorobets O., Keam B., Vinh-Hung V., Nguyen N.P. /Twenty-five years overall survival prognostic value of the lymph node ratio in De Novo metastatic breast cancer. // *Anticancer Res*. 2024 May; 44(5): P.1995-2002.
81. Grecuccio S. et al. /Prognostic value of mediastinal lymph node enlargement in chronic interstitial lung disease. // *Diagn Interv Radiol*. 2021 May;27(3): P.329-335.
82. Gregory et al. /Infection programs sustained lymphoid stromal cell responses and shapes lymph node remodeling upon secondary challenge// *Cell Reports* 18, 406–418 January 10, 2017. – P. 406-418.
83. Hasegawa T. et al. /Anti-CX3CL1 (fractalkine) monoclonal antibody attenuates lung and skin fibrosis in sclerodermatous graft-versus-host disease mouse model. // *Arthritis Res Ther*. 2024 May 3;26(1):94. – P. 1-13.

84. He X., Fan Y., Lai Y., Yang Y., Tang X.X., Wang Y. /Research progress of pericytes in pulmonary fibrosis. // *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2024 Apr 8;29(4):141. – P. 2-12.
85. Hutchinson J., Fogarty A., Hubbard R., McKeever T. /Global incidence and mortality of idiopathic pulmonary fibrosis: a systematic review. // *Eur Respir J*. 2015 Sep;46(3): P.795-806.
86. Jenny Wigén et al. / Converging pathways in pulmonary fibrosis and Covid-19 - The fibrotic link to disease severity// *Respiratory Medicine: X* 2 (2020) 100023. – P.2-5.
87. Ji H., Hu C., Yang X., Liu Y., Ji G., Ge S., Wang X., Wang M. /Lymph node metastasis in cancer progression: molecular mechanisms, clinical significance and therapeutic interventions. // *Signal Transduct Target Ther*. 2023 Sep 27;8(1):367. – P. 2-33.
88. Jeucken K.C.M., Koning J.J., Mebius R.E., Tas S.W. /The role of endothelial cells and TNF-receptor superfamily members in lymphoid organogenesis and function during health and inflammation. // *Front Immunol*. 2019 Nov 20;10:2700. – P.1-12.
89. John A.E., Joseph C., Jenkins G., Tatler A.L. /COVID-19 and pulmonary fibrosis: A potential role for lung epithelial cells and fibroblasts. // *Immunol Rev*. 2021 Jul;302(1): P.228-240.
90. Karampitsakos T. et al. /Expression of PD-1/PD-L1 axis in mediastinal lymph nodes and lung tissue of human and experimental lung fibrosis indicates a potential therapeutic target for idiopathic pulmonary fibrosis. // *Respir Res*. 2023 Nov 14;24(1):279. – P.5-13.
91. Kelch I.D. et al. /Organ-wide 3D-imaging and topological analysis of the continuous microvascular network in a murine lymph node. // *Sci Rep*. 2015 Nov 16; 5:16534. – P.2-19.
92. Kevin K. Brown et al. / The natural history of progressive fibrosing interstitial lung diseases// *Original article interstitial lung disease*. 2020; 55: 2000085. – P.2-10.

93. Khalil N., Churg A., Muller N., O'Connor R. /Environmental, inhaled and ingested causes of pulmonary fibrosis. // *Toxicol Pathology*. 2007 Jan; 35(1): - P. 86-96.
94. Kiener M. et al /Human-Based Advanced *in vitro* Approaches to Investigate Lung Fibrosis and Pulmonary Effects of COVID-19. // *Front Med (Lausanne)*. 2021 May 7;8:644678. – P.1-21.
95. [Kwei-Yan Liu](#) et al. /Multidimensional Analysis of Lung Lymph Nodes in a Mouse Model of Allergic Lung Inflammation following PM2.5 and Indeno[1,2,3- cd]pyrene Exposure// *Environ Health Perspect*. 2023 Mar ;131(3):37014. – P.1-14.
96. Koning J.J. et al. /Development of follicular dendritic cells in lymph nodes depends on retinoic acid-mediated signaling. // *Development*. 2021 Oct 15;148(20):dev199713.
97. Lamb Y.N. /Nintedanib: A review in fibrotic interstitial lung diseases.// *Drugs*. 2021 Apr;81(5): - P. 575-586.
98. Li L., Wu J., Abdi R., Jewell C.M., Bromberg J.S. /Lymph node fibroblastic reticular cells steer immune responses. // *Trends Immunol*. 2021 Aug;42(8): P.723-734.
99. Liao Y.W. et al. /Multidisciplinary-derived clinical score for accurate prediction of long-term mortality in fibrotic lung disease patients. // *Eur J Med Res*. 2024 Jan 20;29(1):69.
100. Magnini D. et al. /Idiopathic pulmonary fibrosis: molecular endotypes of fibrosis stratifying existing and emerging therapies // *Respiration*. – 2017. – T. 93. – №. 6. – P. 379-395.
101. Maher T.M., Bendstrup E., Dron L., Langley J., Smith G., Khalid J.M., Patel H., Kreuter M. /Global incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis. // *Respir Res*. 2021 Jul 7;22(1):197.
102. Maher T.M., Wuyts W. /Management of Fibrosing Interstitial Lung Diseases. // *Adv Ther*. 2019 Jul;36(7):P.1518-1531.

103. Mohammadi A. et al. /Post-COVID-19 pulmonary fibrosis //Cureus. – 2022. – T. 14. – №. 3. – P.1-7.
104. Motta J.P.S. et al. /Freezing mediastinal lymph node: first case of mediastinal cryobiopsy guided by EBUS in Brazil. //J Bras Pneumol. 2024 May 13;50(2):e20230315. English, Portuguese.
105. Molyneaux P. L. [et al.] /CYFRA 21-1 Predicts Progression in Idiopathic Pulmonary Fibrosis: A Prospective Longitudinal Analysis of the PROFILE Cohort // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2022 Jun. Vol. 205, N 12. P. 1440–1448.
106. Nakajima Y. et al. /The importance of determining surgical indications in cases of lung cancer and interstitial pneumonia with multiple intrapulmonary lymph nodes.// Int J Surg Case Rep. 2016;18: - P. 5-8.
107. Natsuizaka M. et all. /Epidemiologic survey of Japanese patients with idiopathic pulmonary fibrosis and investigation of ethnic differences// Am J Respir Crit Care Med. 2014 Oct 1;190(7): P.773-779.
108. Nitesh Kumar Jain, Khedr, A., Ahmed Mushtaq, H., Bartlett, B., Lanz, A., Zoesch, G., Anjum Khan, S. (2022). Gastroesophageal Reflux and Idiopathic Pulmonary Fibrosis. IntechOpen. – P. 1-14.
109. Novkovic M., Onder L., Bocharov G., Ludewig B. /Topological Structure and Robustness of the Lymph Node Conduit System. // Cell Rep. 2020 Jan 21;30(3):893-904.e6. – P. 893-904.
110. Ohtani O., Ohtani Y. /Structure and function of rat lymph nodes. // Arch Histol Cytol. 2008 Sep;71(2): P.69-76.
111. Onder L., et al. /Lymphatic Endothelial Cells Control Initiation of Lymph Node Organogenesis. // Immunity. 2017 Jul 18;47(1): P.80-92.
112. Pan J., Li X. et al. /MCTR1 Intervention Reverses Experimental Lung Fibrosis in Mice. // J Inflamm Res. 2021 May 11;14: - P. 1873-1881.
113. Pasierbek M. /Functional anatomy of the mediastinal lymph nodes in rats. // Lymphat Res Biol. 2014 Sep;12(3): P.157-163.

114. Romano G. et al. /Sentinel lymph node mapping in lung cancer: a pilot study for the detection of micrometastases in stage i non-small cell lung cancer. // Tomography. 2024 May 15;10(5): P. 761-772.
115. Ruaro B, et al. Gastroesophageal Reflux Disease in Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Viewer or Actor? To Treat or Not to Treat? Pharmaceuticals (Basel). 2022 Aug 22;15(8):1033. – P. 3-15.
116. Rumende C.M. /Pulmonary fibrosis caused by severe COVID-19 infection: discharge may not be the end of treatment. // Acta Med Indones. 2021 Apr;53(2): - P. 141-142.
117. Simon L.F. Walsh et al. /An integrated clinicoradiological staging system for pulmonary sarcoidosis: a case-cohort study// Lancet Respir Med 2014; 2: P.123–130.
118. Shi X.L. et al. /Precise lymph node biopsy for endometrial cancer confined to the uterus: Analysis of 43 clinical cases. // Taiwan J Obstet Gynecol. 2024 May;63(3): P.369-374.
119. Sin S. et al. /Impact of mediastinal lymph node enlargement on the prognosis of idiopathic pulmonary fibrosis //PLoS One. – 2018. – T. 13. – №. 7. – P.1-11.
120. Singh S.J. et al. /Respiratory sequelae of COVID-19: pulmonary and extrapulmonary origins, and approaches to clinical care and rehabilitation. // Lancet Respir Med. 2023 Aug;11(8): P.709-725.
121. Suami H., Scaglioni M.F. /Anatomy of the lymphatic system and the lymphosome concept with reference to lymphedema. // Semin Plast Surg. 2018 Feb;32(1): P.5-11.
122. Spagnolo P. et al. /Mechanisms of progressive fibrosis in connective tissue disease (CTD)-associated interstitial lung diseases (ILDs) // Ann Rheum Dis. 2021 Feb;80(2): P.143-150.
123. Spagnolo P. et al. /Pulmonary fibrosis secondary to COVID-19: a call to arms? // Lancet Respir Med. 2020 Aug;8(8): P.750-752.

124. Tabary M., Khanmohammadi S., Araghi F., Dadkhahfar S., Tavangar S.M. /Pathologic features of COVID-19: A concise review. // *Pathol Res Pract.* 2020 Sep; 216(9):153097. – P. 1-5.
125. Tan J., Xue Q., Hu X., Yang J. /Inhibitor of PD-1/PD-L1: a new approach may be beneficial for the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. // *J Transl Med.* 2024 Jan 23;22(1):95. – P. 1-14.
126. Thomas S.N., Rohner N.A., Edwards E.E. /Implications of lymphatic transport to lymph nodes in Immunity and Immunotherapy. // *Annu Rev Biomed Eng.* 2016 Jul 11;18: P.207-233.
127. Thomson C.A., McCoy K.D. /Not All Lymph Nodes Are Created Equal. // *Immunity.* 2019 Jul 16;51(1): P.12-14.
128. Torrisi S.E. et al. /Possible value of antifibrotic drugs in patients with progressive fibrosing non-IPF interstitial lung diseases. // *BMC Pulm Med.* 2019 Nov 12;19(1):213.
129. Trivedi A., Reed H.O. /The lymphatic vasculature in lung function and respiratory disease. // *Front Med (Lausanne).* 2023 Mar 14;10. – P.1-10.
130. Turner V.M., Mabbott N.A. Structural and functional changes to lymph nodes in ageing mice. *Immunology.* 2017 Jun;151(2): P.239-247.
131. Vasarmidi E., Tsitoura E., Spandidos D.A., Tzanakis N., Antoniou K.M. /Pulmonary fibrosis in the aftermath of the Covid-19 era (Review). // *Exp Ther Med* 20: 2557-2560, 2020. – P. 2558-2560.
132. Vitiello A., Pelliccia C., Ferrara F. /COVID-19 patients with pulmonary fibrotic tissue: clinical pharmacological rational of antifibrotic Therapy. // *SN Compr Clin Med.* 2020;2(10): P.1709-1712.
133. Wancket L.M. /Regional Draining Lymph Nodes: Considerations for Medical Device Studies. // *Toxicol Pathol.* 2019 Apr;47(3): P.339-343.
134. White Eric S. et all./ Challenges for Clinical Drug Development in Pulmonary Fibrosis// *Frontiers in Pharmacology.* January, 2022. P.1-9
135. World Health Organization (WHO). 2024 [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-\(copd\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-(copd)).

136. Wijsenbeek M, Cottin V. /Spectrum of Fibrotic Lung Diseases. // N Engl J Med. 2020 Sep 3;383(10): P.958-968.
137. Willard-Mack C.L. /Normal structure, function, and histology of lymph nodes. // Toxicol Pathol. 2006;34(5): P.409-24.
138. Wollin L. et al. /Potential of nintedanib in treatment of progressive fibrosing interstitial lung diseases. // Eur Respir J. 2019 Sep 19;54(3):1900161.
139. Wolters P.J., Collard H.R., Jones K.D. /Pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. // Annu Rev Pathol. 2014;9: P.157-79.
140. Wu X., Li W., Luo Z., Chen Y. /A comprehensive comparison of the safety and efficacy of drugs in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: a network meta-analysis based on randomized controlled trials. // BMC Pulm Med. 2024 Jan 27; 24(1):58.
141. Yang Z. et al. /Comparison of Doppler Imaging and Microvascular Imaging in Cervical Lymph Node Blood Flow Analysis. // Curr Med Imaging. 2024; 20(1):e15734056306197.
142. Yu Minhua. /Prediction of the Development of Pulmonary Fibrosis Using Serial Thin-Section CT and Clinical Features in Patients Discharged after Treatment for COVID-19 Pneumonia // Korean J Radiol 2020;21(6): P.746-755.
143. Zhen\_Zheng et all. /Pulmonary fibrosis: A short- or long-term sequelae of severe COVID-19?// Chinese Medical Journal Pulmonary and Critical Care Medicine. June 2023, Pages 77-83.
144. Zou M., Wiechers C., Huehn J. /Lymph node stromal cell subsets- Emerging specialists for tailored tissue-specific immune responses. // Int J Med Microbiol. 2021 Apr;311(3):151492.