



URGANCH DAVLAT TIBBIYOT INSTITUTI JANUBIY OROLBO'YI TIBBIYOT JURNALI

2 - TOM, 4 - SON. 2026

14.00.00 - TIBBIYOT FANLARI ISSN: 3093-8740

УДК: 616.98:618.19-006.04-08-078.33

МОДЕЛИРОВАНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ИНГАЛЯЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЧАСТИЦ PM_{2.5} И ТАБАЧНОГО ДЫМА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ: МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ МОРФОЛОГИИ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ

Файзиева Нозима Гулом кизи

Самостоятельный соискатель Бухарского государственного медицинского института
имени Абу Али ибн Сино

fayziyeva.nozima94@mail.ru

<https://orcid.org/0009-0005-7712-0523>



Темирова Назокат Рустамовна

Доцент кафедры анатомии и клинической анатомии Бухарского государственного
медицинского института имени Абу Али ибн Сино, Бухара, Узбекистан

temirovanazokat265@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0004-0700-3068>



Аннотация. Загрязнение атмосферного воздуха мелкодисперсными частицами PM_{2.5} и потребление табака являются двумя ведущими факторами риска глобального масштаба, комбинированное воздействие которых наносит существенный ущерб иммунной системе, в частности регионарным лимфатическим узлам. В настоящей статье подробно изложены материалы и методы экспериментального моделирования такого воздействия. Исследование выполнено на 150 белых беспородных крысах трёх возрастных когорт (6, 12 и 18 месяцев). Описаны методики моделирования ингаляционного воздействия PM_{2.5} (аэрозольная суспензия сертифицированного пылевого материала ERM®-CZ110 в герметичной камере со свободным дыханием), хронического воздействия табачного дыма (генерация дыма стандартизированных фильтрованных сигарет), а также метод биокоррекции настоем лекарственного алтея (*Althaea officinalis* L.) в дозе 100 мг/кг. Приведены методики забора и гистологической обработки трахеобронхиальных и медиастинальных лимфатических узлов, цифрового морфометрического анализа в программе QuPath v0.6.0, иммуногистохимического



URGANCH DAVLAT TIBBIYOT INSTITUTI JANUBIY OROLBO'YI TIBBIYOT JURNALI

2 - TOM, 4 - SON. 2026

14.00.00 - TIBBIYOT FANLARI ISSN: 3093-8740

исследования маркеров Ki-67 и Bcl-6 с полуколичественной оценкой по системе IRS, а также статистического анализа. Методология обоснована сопоставлением с современными источниками баз Scopus, Web of Science и PubMed и обеспечивает воспроизводимую оценку морфологических, морфометрических и иммуногистохимических изменений лимфатических узлов.

Ключевые слова: PM2.5, табачный дым, ингаляционная модель, лимфатический узел, крысы, морфометрия, QuPath, иммуногистохимия, Ki-67, Bcl-6, IRS, Althaea officinalis, биокоррекция.

EKSPERIMENTDA PM2.5 ZARRACHALARI VA TAMAKI TUTUNING KOMBINATSIYALANGAN INGALYATSION TA'SIRINI MODELLASHTIRISH: LIMFA TUGUNLARI MORFOLOGIYASINI O'RGANISH MATERIALLARI VA USULLARI

Fayziyeva Nozima G'ulom qizi

Abu Ali ibn Sino nomidagi Buxoro davlat tibbiyot instituti mustaqil izlanuvchisi

fayziyeva.nozima94@mail.ru

<https://orcid.org/0009-0005-7712-0523>

Temirova Nazokat Rustamovna

Abu Ali ibn Sino nomidagi Buxoro davlat tibbiyot instituti Anatomiya va klinik anatomiya

kafedrasi dotsenti, Buxoro, O'zbekiston

temirovanazokat265@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0004-0700-3068>

Annotatsiya. Atmosfera havosining PM2.5 mayda dispersli zarrachalar bilan ifloslanishi va tamaki iste'moli global miqyosdagi ikkita yetakchi xavf omili bo'lib, ularning kombinatsiyalangan ta'siri immun tizimga, xususan regionar limfa tugunlariga sezilarli zarar yetkazadi. Ushbu maqolada mazkur ta'sirni eksperimental modellashtirish material va usullari batafsil bayon etilgan. Tadqiqot uch yosh guruhiga (6, 12 va 18 oylik) mansub 150 ta oq zotsiz kalamushda o'tkazilgan. PM2.5 ingalyatsion ta'sirini modellashtirish (ERM®-CZ110 sertifikatlangan chang materiali suspenziyasini germetik kamerada aerizatsiya qilish), tamaki tutunining surunkali ta'siri hamda lekarstvennii al'tey (*Althaea officinalis* L.) damlamasi bilan biokorreksiya usullari, shuningdek limfa tugunlarini olish, gistologik qayta ishlash, QuPath v0.6.0 dasturida raqamli morfometriya va Ki-67, Bcl-6 markerlari bo'yicha IRS tizimida immunogistokimyoviy tekshiruv usullari tavsiflangan. Metodologiya Scopus, Web of Science va PubMed bazalaridagi zamonaviy manbalar bilan qiyoslab asoslangan.

Kalit so'zlar: PM2.5, tamaki tutuni, ingalyatsion model, limfa tuguni, kalamushlar, morfometriya, QuPath, immunogistokimyo, Ki-67, Bcl-6, IRS, *Althaea officinalis*, biokorreksiya.

MODELING OF COMBINED INHALATION EXPOSURE TO PM2.5 PARTICLES AND TOBACCO SMOKE IN AN EXPERIMENT: MATERIALS AND METHODS FOR STUDYING LYMPH NODE MORPHOLOGY

Fayziyeva Nozima Gulom kizi

Independent Researcher, Bukhara State Medical Institute named after Abu Ali ibn Sina

fayziyeva.nozima94@mail.ru

<https://orcid.org/0009-0005-7712-0523>

Temirova Nazokat Rustamovna

*Associate Professor, Department of Anatomy and Clinical Anatomy, Bukhara State Medical
Institute named after Abu Ali ibn Sina, Bukhara, Uzbekistan*

temirovanazokat265@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0004-0700-3068>



URGANCH DAVLAT TIBBIYOT INSTITUTI JANUBIY OROLBO'YI TIBBIYOT JURNALI

2 - TOM, 4 - SON. 2026

14.00.00 - TIBBIYOT FANLARI ISSN: 3093-8740

Abstract. Ambient fine particulate matter (PM_{2.5}) pollution and tobacco use are two leading global risk factors whose combined exposure substantially damages the immune system, particularly the regional lymph nodes. This article details the materials and methods for experimentally modelling such exposure. The study was performed on 150 outbred white rats of three age cohorts (6, 12 and 18 months). It describes the methods for modelling PM_{2.5} inhalation exposure (aerosolization of a suspension of the certified reference dust material ERM®-CZ110 in a sealed free-breathing chamber), chronic tobacco-smoke exposure (smoke generation from standardized filter cigarettes), and the biocorrection method using an infusion of marshmallow (*Althaea officinalis* L.) at 100 mg/kg. The procedures for sampling and histological processing of tracheobronchial and mediastinal lymph nodes, digital morphometric analysis in QuPath v0.6.0, immunohistochemical assessment of Ki-67 and Bcl-6 markers with semiquantitative IRS scoring, and statistical analysis are presented. The methodology is substantiated against current sources from Scopus, Web of Science and PubMed and provides reproducible assessment of lymph-node changes.

Keywords: *PM_{2.5}, tobacco smoke, inhalation model, lymph node, rats, morphometry, QuPath, immunohistochemistry, Ki-67, Bcl-6, IRS, Althaea officinalis, biocorrection.*

Введение. Загрязнение атмосферного воздуха и потребление табака относятся к ведущим предотвратимым факторам риска для здоровья человека. По данным отчёта «State of Global Air 2024», в 2021 году загрязнение воздуха стало вторым по значимости фактором риска смертности в мире (8,1 млн смертей), причём более 90% этих случаев связаны с воздействием мелкодисперсных частиц PM_{2.5} [1; 2]. Табакокурение ежегодно уносит более 8 млн жизней, из которых около 1,3 млн приходится на пассивное курение [3]. Поскольку табачный дым является одним из основных источников загрязнения воздуха закрытых помещений частицами PM_{2.5}, современный человек нередко подвергается сочетанному действию обоих факторов [4]. Экспериментальные исследования показали, что вдыхаемые частицы накапливаются в макрофагах лёгочно-ассоциированных лимфатических узлов, нарушая их архитектуру и иммунную функцию [5].

Для изучения патогенетических механизмов такого воздействия и оценки эффективности средств защиты необходимы адекватные и воспроизводимые экспериментальные модели на лабораторных животных. Существует два основных подхода к моделированию воздействия PM_{2.5} - интратрахеальная инстиляция и ингаляционное воздействие; при этом ингаляционный путь считается физиологически наиболее приближённым к реальным условиям экспозиции человека, хотя и требует специализированного оборудования [6; 7]. Аналогично, для моделирования действия табачного дыма применяют камеры полнотелой (whole-body) или назальной (nose-only) экспозиции, каждая из которых имеет свои преимущества и ограничения [8; 9; 10]. Выбор корректной методологии определяет достоверность и воспроизводимость получаемых морфологических данных.



URGANCH DAVLAT TIBBIYOT INSTITUTI JANUBIY OROLBO'YI TIBBIYOT JURNALI

2 - TOM, 4 - SON. 2026

14.00.00 - TIBBIYOT FANLARI ISSN: 3093-8740

Рисунок 1. Дизайн эксперимента (150 белых беспородных крыс)



Рисунок 1. Общая схема дизайна экспериментального исследования.

Цель настоящей работы – детально изложить и обосновать материалы и методы экспериментального моделирования комбинированного ингаляционного воздействия частиц PM2.5 и табачного дыма, а также метод биокоррекции, применённые для изучения морфологических, морфометрических и иммуногистохимических изменений регионарных лимфатических узлов у крыс различных возрастных групп.

Материалы и методы

Объект исследования и дизайн эксперимента. Экспериментальные исследования проведены на 150 клинически здоровых белых беспородных крысах трёх возрастных когорт - 6, 12 и 18 месяцев. До начала эксперимента животные содержались в карантине в течение 21 дня, во время которого регулярно контролировали их общее состояние, двигательную активность, массу тела, потребление корма и воды. В эксперимент включали только клинически здоровых животных без внешних патологических признаков.

Животных содержали в стандартных условиях вивария: температура 19–22 °С, относительная влажность воздуха 50–60%, световой режим 12 ч света и 12 ч темноты, свободный доступ к стандартному лабораторному корму и питьевой воде. Условия содержания, кормления и ухода были одинаковыми для всех возрастных и экспериментальных групп, что обеспечивало сопоставимость результатов. Согласно задачам исследования, наряду с интактным контролем моделировали изолированное воздействие PM2.5, изолированное воздействие табачного дыма и их комбинированное воздействие, а также соответствующие группы биокоррекции; базовые экспериментальные группы приведены в таблице 1.



URGANCH DAVLAT TIBBIYOT INSTITUTI JANUBIY OROLBO'YI TIBBIYOT JURNALI

2 - TOM, 4 - SON. 2026

14.00.00 - TIBBIYOT FANLARI ISSN: 3093-8740

Таблица 1.

Экспериментальные группы животных

Группа	Условие эксперимента
I группа	Интактный (нормальный) контроль
II группа	Комбинированное ингаляционное воздействие PM2.5 и табачного дыма
III группа	Комбинированное воздействие PM2.5 и табачного дыма с биокоррекцией настоем <i>Althaea officinalis</i>

Животные интактного контроля содержались в стандартных условиях вивария и не подвергались воздействию PM2.5, табачного дыма и биокорректора. Для исключения влияния стресса, связанного с фактором ингаляционной камеры, контрольных животных также помещали в аналогичную камеру и экспонировали очищенным атмосферным воздухом.

Моделирование ингаляционного воздействия PM2.5

Перед ингаляционным воздействием сертифицированный референсный пылевой материал ERM®-CZ110 приводили в состояние суспензии в стерильном 0,9% растворе натрия хлорида. Для уменьшения агрегации частиц и обеспечения их равномерного распределения в жидкой среде применяли метод ультразвукового диспергирования. Суспензию готовили заново перед каждой ингаляционной процедурой.

Аэрозоль подавали в ингаляционную камеру через специальный небулайзер (генератор аэрозоля). Равномерное распределение частиц PM2.5 в камере обеспечивалось контролируемым потоком воздуха и системой вентиляции. Такой подход соответствует современным методикам ингаляционного воздействия, при которых аэрозоль генерируется небулайзером и подаётся в камеру полнотелой экспозиции с контролем массовой концентрации частиц [7; 11; 12]. Во время экспозиции контролировали следующие показатели:

- массовую концентрацию аэрозоля PM2.5;
- распределение частиц аэрозоля по объёму камеры;
- скорость воздухообмена;
- температуру и влажность в камере;
- достаточное содержание кислорода;
- длительность экспозиции.

Животных подвергали воздействию аэрозоля PM2.5 в условиях свободного дыхания. При этом частицы поступали в организм через дыхательные пути, достигая верхних дыхательных путей, бронхов и альвеол. Была сформирована экспериментальная модель, приближённая к условиям, при которых задержанные в органах дыхания частицы через регионарный лимфоток достигают трахеобронхиальных и медиастинальных лимфатических узлов. Воздействие PM2.5 проводили ежедневно в одно и то же время суток при одинаковых условиях экспозиции; после каждой процедуры камеру очищали и вентилировали.

Моделирование воздействия табачного дыма

Для моделирования хронического ингаляционного воздействия табачного дыма использовали специально изготовленную герметичную ингаляционную камеру. В эксперименте применяли фильтрованные фабричные сигареты одной производственной серии со стандартизированным составом и физическими характеристиками. Сигареты сжигали в специальной системе генерации дыма; образующийся табачный дым подавали в камеру контролируемым потоком воздуха. Животные внутри камеры имели возможность свободного дыхания. Подобные модели полнотелой экспозиции широко применяются для воспроизведения хронического действия табачного дыма у грызунов и обеспечивают уровни котинина в сыворотке, сопоставимые с таковыми у активных курильщиков [13; 14; 15].



URGANCH DAVLAT TIBBIYOT INSTITUTI JANUBIY OROLBO'YI TIBBIYOT JURNALI

2 - TOM, 4 - SON. 2026

14.00.00 - TIBBIYOT FANLARI ISSN: 3093-8740

Для предотвращения дефицита кислорода и избыточного накопления углекислого газа в камеру подавали поток очищенного воздуха извне; равномерное распределение дыма обеспечивалось системой вентиляции. В процессе воздействия поступление в организм животного через дыхательные пути основных компонентов табачного дыма контролировалось; к ним относятся:

- никотин;
- оксид углерода;
- оксиды азота;
- смолистые вещества;
- летучие органические соединения;
- мелкодисперсные частицы.

Воздействие табачного дыма проводили ежедневно в одно и то же время при стандартизированных условиях экспозиции. В ходе экспозиции контролировали воздухообмен, температуру, влажность в камере и состояние животных. Сформированная модель позволила оценить действие поступивших через органы дыхания токсических веществ на регионарные лимфатические узлы на морфологическом, морфометрическом и иммуногистохимическом уровнях.

Метод биокоррекции настоем *Althaea officinalis* L.

В качестве биокорректора использовали настой лекарственного алтея — *Althaea officinalis* L., содержащий слизистые вещества, полисахариды, флавоноиды, фенольные соединения и антиоксидантные компоненты. Выбор данного растения обоснован современными данными: экстракты *A. officinalis* содержат высокомолекулярные полисахариды (мукополисахариды), флавоноиды (кемпферол, кверцетин), фенольные кислоты и кумарины и обладают выраженными антиоксидантными, противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами, включая защиту клеток от окислительного стресса и стимуляцию фагоцитоза [26; 27; 28; 29]. Растительное сырьё готовили в соответствии с фармакопейными требованиями; оно включало высушенные надземные части и корни растения. Перед приготовлением настоя сырьё измельчали до однородного размера.

Для приготовления настоя 10 г сухого растительного сырья заливали 100 мл горячей дистиллированной воды. Смесь выдерживали на водяной бане в течение 15–20 минут, затем охлаждали при комнатной температуре в течение 45 минут и фильтровали через двойной слой стерильной марли. Таким образом получали условно 10% настой. Готовый настой применяли свежеприготовленным, без хранения. Настой вводили животным перорально (интрагастрально) с помощью специального металлического зонда.

Дозу настоя рассчитывали индивидуально относительно массы тела животного в день эксперимента; в пересчёте на сухое растительное сырьё она составляла 100 мг/кг, что для приготовленного 10% настоя соответствовало приблизительно 1 мл/кг объёма. Биокорректор вводили один раз в сутки в одно и то же время. Курс коррекции начинали после завершения экспериментального ингаляционного воздействия. Настой применяли по одинаковой схеме и в одинаковой дозе в группах животных, подвергнутых воздействию PM2.5, табачного дыма и их комбинации. В контрольной и не получавших биокоррекцию экспериментальных группах для уравнивания эффекта, связанного с введением зонда, применяли соответствующий объём дистиллированной воды или растворителя биокорректора. В период коррекции регулярно контролировали общее состояние, двигательную активность, массу тела, питание, потребление воды и характер дыхания животных.

Забор и гистологическая обработка морфологического материала

После завершения сроков эксперимента и биокоррекции животных выводили из опыта под общей анестезией в соответствии с утверждённым биоэтическим протоколом, без



URGANCH DAVLAT TIBBIYOT INSTITUTI JANUBIY OROLBO'YI TIBBIYOT JURNALI

2 - TOM, 4 - SON. 2026

14.00.00 - TIBBIYOT FANLARI ISSN: 3093-8740

причинения животным избыточной боли и стресса. Для морфологического исследования выделяли регионарные лимфатические узлы органов дыхания — трахеобронхиальные и медиастинальные, тщательно очищая их от окружающей жировой и соединительной ткани. При макроскопическом исследовании оценивали анатомическое расположение, форму, цвет, консистенцию, длину, ширину и толщину, абсолютную массу и состояние наружной поверхности лимфатического узла.

Выделенные лимфатические узлы немедленно, не допуская высыхания, помещали в 10% раствор нейтрального забуференного формалина; объём фиксатора не менее чем в 10 раз превышал объём ткани. Фиксацию проводили в течение 24–48 часов. Фиксированные узлы промывали в проточной воде, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации, просветляли в ксилоле и заливали в парафиновые блоки. С помощью ротационного микротомы изготавливали гистологические срезы толщиной 4–5 мкм, которые депарафинировали, регидратировали и окрашивали гематоксилином и эозином для оценки общей гистологической структуры (рисунок 2).

Рисунок 2. Этапы обработки морфологического материала



Рисунок 2. Основные этапы обработки морфологического материала.

При гистологическом исследовании оценивали: капсулу и трабекулы; субкапсулярный, промежуточный и мозговой синусы; соотношение коркового и мозгового вещества; степень развития паракортикальной зоны; первичные и вторичные лимфоидные фолликулы; герминативный центр и зону мантии; мозговые тяжи; клеточный состав (лимфоциты, макрофаги, плазмциты, ретикулярные клетки); признаки редукции, гиперплазии, разрежения клеток и стромального ремоделирования; состояние кровеносных и лимфатических сосудов; отёк, дистрофию и воспалительную инфильтрацию. Микропрепараты изучали в световом микроскопе Leica DM-750 при увеличениях $\times 100$, $\times 200$ и $\times 400$; цифровые микрофотографии получали через встроенную камеру при одинаковых для всех групп настройках увеличения, освещения и камеры.

Морфометрический анализ

Морфометрический анализ проводили на оцифрованных гистологических изображениях в программе QuPath v0.6.0 - открытом программном обеспечении для анализа изображений цифровой патологии, обеспечивающем высокую воспроизводимость количественных оценок [23; 24; 25]. Перед анализом программу калибровали с помощью микрометрической шкалы. В анализ включали анатомически полные срезы удовлетворительного качества окраски без технических дефектов; сморщенные, разорванные, наложенные или неравномерно окрашенные срезы исключали. Определяли следующие морфометрические показатели: общую площадь среза узла (мм^2); толщину капсулы (мкм); площади коркового, мозгового вещества и паракортикальной зоны (мм^2); корково-мозговой



URGANCH DAVLAT TIBBIYOT INSTITUTI JANUBIY OROLBO'YI TIBBIYOT JURNALI

2 - TOM, 4 - SON. 2026

14.00.00 - TIBBIYOT FANLARI ISSN: 3093-8740

индекс; число, площадь и средний диаметр лимфоидных фолликулов; площадь и диаметр герминативных центров; число клеток в герминативном центре; плотность лимфоцитов; число малых, средних и крупных лимфоидных клеток, а также макрофагов, плазмочитов и ретикулярных клеток.

Толщину капсулы измеряли не менее чем в 10 удалённых друг от друга точках узла, среднее значение принимали за толщину капсулы данного препарата. Диаметр фолликула и герминативного центра определяли как среднее наибольшего диаметра и перпендикулярного ему наименьшего диаметра. Для оценки клеточного состава анализировали цифровые изображения герминативных центров при увеличении $\times 400$; в каждом препарате выделяли стандартную область интереса (ROI) одинаковой площади. Ядра клеток внутри ROI сегментировали автоматически с помощью алгоритма «Nucleus Detection» программы QuPath; параметры сегментации предварительно подбирали на пилотных препаратах и далее применяли ко всем группам без изменений. Лимфоидные клетки классифицировали по площади ядра: малые ($< 50 \text{ мкм}^2$), средние ($50\text{--}100 \text{ мкм}^2$) и крупные ($> 100 \text{ мкм}^2$). Плотность лимфоцитов вычисляли как отношение числа лимфоцитов в стандартной области (N) к площади ROI (S): $\text{ЛП} = N / S$; результаты выражали в клетках/ мм^2 или $\times 10^3$ клеток/ мм^2 .

Иммуногистохимическое исследование

Для оценки клеточной пролиферации и функционального состояния В-лимфоцитов герминативного центра проводили иммуногистохимическое исследование с маркерами Ki-67 и Bcl-6. Ki-67 - ядерный антиген, экспрессирующийся во всех активных фазах клеточного цикла и служащий общепризнанным маркером пролиферативной активности; Bcl-6 - транскрипционный фактор В-клеток герминативного центра [18; 19; 20]. С парафиновых блоков получали срезы толщиной 3–4 мкм, размещали их на адгезивных предметных стёклах, депарафинировали и регидратировали. Демаскировку антигенов проводили в соответствующем буферном растворе при температуре 98°C в течение 30–40 минут. Эндогенную пероксидазную активность блокировали раствором перекиси водорода.

Срезы инкубировали с первичными антителами к Ki-67 и Bcl-6 в соответствии с рекомендациями производителя. Для визуализации реакции использовали систему HRP-полимера и хромоген DAB; ядра докрашивали гематоксилином. Коричневое DAB-окрашивание ядра расценивали как положительный результат. Иммуногистохимические реакции оценивали полуколичественно по системе IRS (Immunoreactive Score) Remmele и Stegner (таблица 2). Итоговый показатель рассчитывали как произведение баллов: $\text{IRS} = A \times B$, где A - балл по доле иммунопозитивных клеток, B — балл по интенсивности окрашивания.

Таблица 2.

Полуколичественная система оценки IRS

Доля позитивных клеток	Балл (A)	Интенсивность окрашивания	Балл (B)
0%	0	Окрашивание не определяется	0
1–10%	1	Слабое	1
11–50%	2	Умеренное	2
51–80%	3	Интенсивное	3
более 80%	4	—	—

Статистический анализ. Полученные морфометрические и иммуногистохимические данные вносили в электронную базу и обрабатывали в программе IBM SPSS Statistics 23. Количественные показатели представляли в виде средней арифметической и стандартного



URGANCH DAVLAT TIBBIYOT INSTITUTI JANUBIY OROLBO'YI TIBBIYOT JURNALI

2 - TOM, 4 - SON. 2026

14.00.00 - TIBBIYOT FANLARI ISSN: 3093-8740

отклонения ($M \pm SD$). Нормальность распределения проверяли критерием Шапиро–Уилка, однородность дисперсий - критерием Левена. Для оценки влияния возраста и условий эксперимента на нормально распределённые показатели применяли двухфакторный дисперсионный анализ (two-way ANOVA); парные различия между группами определяли *post-hoc* критерием Тьюки. Для анализа данных, не подчиняющихся нормальному распределению, использовали критерий Краскела–Уоллиса и тест множественных сравнений Данна. Показатели IRS как порядковые полуколичественные данные оценивали непараметрическими методами. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Возрастные изменения сопоставляли между животными 6, 12 и 18 месяцев, а экспериментальные изменения — на каждом возрастном этапе между группами контроля, изолированного воздействия, комбинированного воздействия и соответствующей биокоррекции.

Обсуждение. Представленная методология сочетает физиологичный ингаляционный путь введения обоих экзогенных факторов с последующей комплексной морфологической, морфометрической и иммуногистохимической оценкой регионарных лимфатических узлов. Выбор ингаляционного воздействия в камере со свободным дыханием (*whole-body*) обоснован тем, что данный путь, в отличие от интратрахеальной инстилляций, наиболее близок к естественным условиям экспозиции человека и обеспечивает поступление частиц по всей глубине дыхательного тракта [6; 7]. Кроме того, полнотелая экспозиция снижает связанный с ограничением подвижности стресс по сравнению с назальной моделью, что уменьшает потенциальные искажающие эффекты [10; 13]. Одновременно включение контрольных животных в аналогичную камеру с очищенным воздухом позволяет исключить влияние самого фактора камеры.

Использование сертифицированного референсного материала ERM®-CZ110 с ультразвуковым диспергированием обеспечивает стандартизацию и воспроизводимость дозы частиц, что согласуется с рекомендациями по контролю массовой концентрации аэрозоля, распределения частиц, воздухообмена и параметров микроклимата камеры [11; 12; 16]. Применение стандартизированных фабричных сигарет одной серии и контроль основных компонентов дыма (никотин, оксид углерода, оксиды азота, смолы) соответствуют принципам стандартизации в моделях табачного дыма и обеспечивают сопоставимость результатов между группами [14; 15; 17].

Выбор трахеобронхиальных и медиастинальных лимфатических узлов как объекта исследования патогенетически обоснован: именно эти регионарные узлы дренируют дыхательный тракт и первыми принимают на себя нагрузку от вдыхаемых частиц и токсикантов, что подтверждается данными о накоплении вдыхаемых частиц в лёгочно-ассоциированных узлах человека [5]. Применение цифрового морфометрического анализа в QuPath повышает объективность и воспроизводимость количественных оценок, снижая межисследовательскую вариабельность, характерную для визуальной оценки; воспроизводимость определения индексов в QuPath сопоставима с коммерческими платформами цифровой патологии [23; 24; 25].

Выбор маркеров Ki-67 и Vcl-6 позволяет одновременно оценить пролиферативную активность и функциональное состояние В-клеточного компонента герминативных центров - ключевых структур гуморального иммунитета, наиболее чувствительных к действию окислительного стресса и провоспалительных цитокинов [18; 19; 20]. Полуколичественная система IRS обеспечивает стандартизированную и воспроизводимую оценку иммуногистохимических реакций. Наконец, применение настоя *Althaea officinalis* в качестве биокорректора обосновано его документированными антиоксидантными, противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами, связанными с полисахаридами, флавоноидами и фенольными кислотами, а также способностью защищать



URGANCH DAVLAT TIBBIYOT INSTITUTI JANUBIY OROLBO'YI TIBBIYOT JURNALI

2 - TOM, 4 - SON. 2026

14.00.00 - TIBBIYOT FANLARI ISSN: 3093-8740

клетки от индуцированного активными формами кислорода повреждения и стимулировать фагоцитоз [26; 27; 28; 29].

Следует отметить ограничения методологии. Точные параметры экспозиции - число животных в каждой группе, массовая концентрация PM_{2.5}, число и состав сигарет, суточная длительность экспозиции, общий срок воздействия и продолжительность курса биокоррекции - должны быть окончательно внесены в соответствии с протоколом эксперимента; их полная детализация необходима для полноценной воспроизводимости исследования. Кроме того, при использовании процедур ингаляции дыма необходимо учитывать современные требования биоэтики и благополучия животных [10].

Заключение

1. Разработанная методология обеспечивает физиологичное комбинированное ингаляционное моделирование воздействия частиц PM_{2.5} и табачного дыма у крыс трёх возрастных когорт с последующей комплексной оценкой регионарных лимфатических узлов.
2. Стандартизация источников воздействия (референсный материал ERM®-CZ110, фабричные сигареты одной серии) и контроль параметров камеры обеспечивают воспроизводимость дозы и сопоставимость результатов между группами.
3. Сочетание гистологического, цифрового морфометрического (QuPath v0.6.0) и иммуногистохимического (Ki-67, Bcl-6, IRS) методов позволяет объективно оценить структурные и функциональные изменения лимфатических узлов.
4. Метод биокоррекции настоем *Althaea officinalis* L. (100 мг/кг перорально) обоснован антиоксидантными и иммуномодулирующими свойствами растения и пригоден для оценки протективного действия на лимфоидную ткань.
5. Для полной воспроизводимости исследования необходимо окончательно внести точные параметры экспозиции и биокоррекции в соответствии с протоколом эксперимента.

Литература

1. Health Effects Institute. State of Global Air 2024. Special Report. Boston: HEI; 2024.
2. GBD 2021 Risk Factors Collaborators. Global burden and strength of evidence for 88 risk factors, 1990–2021. *Lancet*. 2024;403(10440):2162–2203.
3. World Health Organization. Compendium of WHO and other UN guidance on health and environment, 2024 update. Geneva: WHO; 2024.
4. Jones IA, St. Helen G, Meyers MJ, et al. Biomarkers of secondhand smoke exposure in automobiles. *Tob Control*. 2014;23(1):51–57.
5. Ural BB, Caron DP, Dogra P, et al. Inhaled particulate accumulation with age impairs immune function and architecture in human lung lymph nodes. *Nat Med*. 2022;28(12):2622–2632.
6. Li N, Ma J, Ji K, et al. In vitro and in vivo experimental studies of PM_{2.5} on disease progression. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(8):1783.
7. Nemmar A, et al. Airway exposure to urban aerosolized PM_{2.5} particles induces neuroinflammation and endothelin-mediated contraction of coronary arteries in rats. *Environ Adv*. 2022;7:100147.
8. Snoderly HT, et al. Animal models and mechanisms of tobacco smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*. 2023;26(5):275–305.
9. Wang G, Mohammadtursun N, Sun J, et al. Establishment and evaluation of a rat model of sidestream cigarette smoke-induced COPD. *Front Physiol*. 2018;9:58.
10. National Health and Medical Research Council. Statement on smoke inhalation procedures in rodent models. Canberra: NHMRC; 2023.
11. Sabbagh Molahosseini N, et al. Particulate matter inhalation exposure chambers and parameters affecting their performance: a systematic review. *Health Scope*. 2019;8(4):e80163.



URGANCH DAVLAT TIBBIYOT INSTITUTI JANUBIY OROLBO'YI TIBBIYOT JURNALI

2 - TOM, 4 - SON. 2026

14.00.00 - TIBBIYOT FANLARI ISSN: 3093-8740

12. Xu X, et al. PM2.5-induced oxidative stress and mitochondrial damage in the nasal mucosa of rats. *Int J Environ Res Public Health*. 2017;14(2):134.
13. Small DM, et al. A comparative study of a preclinical survival model of smoke inhalation injury in mice and rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2020;319(5):L772–L780.
14. de Souza Xavier Costa N, et al. Early and late pulmonary effects of cigarette smoke exposure in a whole-body rat model. *PLoS One / Front Physiol*. 2018.
15. Kogel U, Wong ET, Szostak J, et al. Impact of whole-body versus nose-only inhalation exposure systems in a 2-month cigarette smoke exposure study. *J Appl Toxicol*. 2021;41(10):1598–1619.
16. Yang B, et al. Fine particulate matter contributes to COPD-like pathophysiology: experimental evidence from rats exposed to diesel exhaust particles. *Respir Res*. 2024;25:11.
17. Kim J, Cho Y, et al. Repeated intratracheal instillation of whole-cigarette smoke condensate to assess lung damage in a rat model. *Environ Toxicol*. 2024;39(4):2304–2315.
18. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol*. 1984;133(4):1710–1715.
19. Cheng Y, et al. Correlation between C-MYC, BCL-2 and BCL-6 protein expression and gene translocation as biomarkers in DLBCL. *Front Oncol*. 2018;8:658.
20. Song JY, et al. Comparison of Ki-67 labeling index patterns of DLBCL and Burkitt lymphomas using image analysis: a multicenter study. *Diagnostics*. 2021;11(2):272.
21. Remmele W, Stegner HE. Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection. *Pathologe*. 1987;8(3):138–140.
22. Ruifrok AC, Johnston DA. Quantification of histochemical staining by color deconvolution. *Anal Quant Cytol Histol*. 2001;23(4):291–299.
23. Bankhead P, Loughrey MB, Fernández JA, et al. QuPath: open source software for digital pathology image analysis. *Sci Rep*. 2017;7:16878.
24. Acs B, Pelekanou V, Bai Y, et al. Ki67 reproducibility using digital image analysis: an inter-platform and inter-operator study. *Lab Invest*. 2019;99(1):107–117.
25. Usman HA, Zainal Abidin FA. Digital image analysis of immunohistochemistry Ki-67 using QuPath software in breast cancer. *JKKI*. 2021;12(1):73–80.
26. Bonaterra GA, Bronischewski K, Hunold P, et al. Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of Phytohushtil® and root extract of *Althaea officinalis* L. on macrophages in vitro. *Front Pharmacol*. 2020;11:290.
27. Bonaterra GA, et al. Phytohushtil® and root extract of *Althaea officinalis* L. exert anti-inflammatory and anti-oxidative properties and improve the migratory capacity of endothelial cells in vitro. *Front Pharmacol*. 2022;13:948248.
28. Shah SMA, et al. High-value phytochemicals and nutra-pharmaceutical prospects of *Althaea officinalis* L. (marshmallow): a review. *Food Biosci*. 2025;65:104-XX.
29. Sadighara P, et al. Pharmacological and phytochemical profile of marshmallow (*Althaea officinalis*): antioxidant, anti-inflammatory and immunostimulant activity. *J Pharmacogn Phytochem*. 2025;14(1):1–8.
30. Zhao Y, et al. An update on adverse health effects from exposure to PM2.5. *Environ Adv*. 2024;18:100603.