

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГИОНАРНОГО ЛИМФАТИЧЕСКОГО УЗЛА ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ КОРРЕКЦИИ ТРОМБОВАЗИМОМ

Валентина Ивановна ЧЕПИК, Олег Васильевич КАЗАКОВ, Наталья Евгеньевна ГЕЛЬФОНД, Ольга Васильевна ШУВАЕВА, Вадим Васильевич АСТАШОВ, Евгений Иванович ВЕРЕЩАГИН

ГУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 4

Применение лекарственного ферментного препарата «Тромбовазим» в остром периоде ишемии-реперфузии печени способствует активации барьерно-детоксикационной функции лимфатического региона печени. В регионарных лимфатических узлах печени стимулируется барьерная и лимфопоэтическая функции (увеличена относительная площадь мозговых тяжей, число незрелых форм клеток лимфоидного и плазматического рядов, выражена макрофагально-тучноклеточная реакция). При введении препарата «Тромбовазим» морфологические и биоорганические преобразования свидетельствуют о преодолении нарушений локальной гемодинамики, уменьшении степени эндогенной интоксикации организма в остром постишемическом периоде.

Ключевые слова: ишемия-реперфузия, лимфатические узлы, печень, протеолитические ферменты, макро- и микроэлементы.

Печень чрезвычайно чувствительна к влиянию различных эндо- и экзогенных дестабилизирующих факторов, в том числе при моделируемой ишемии печени с реперфузией. Известно, что постоянство внутренней среды организма, его эндоэкологическое пространство, поддерживается функциями лимфатической системы. Ее роль может быть определена как дренажно-детоксикационная [1, 2]. В постишемическом периоде часть токсических веществ поступает с током лимфы в регионарные лимфатические узлы печени, в лимфатические сосуды, обуславливая формирование местного эндотоксикоза, усугубляющего течение патологического процесса. Исследования патологических процессов свидетельствуют о значительных изменениях в обмене и балансе микроэлементов на клеточном, тканевом и организменном уровнях.

Цель работы

Изучение структурной организации печеночного лимфатического узла, исследование микроэлементного состава лимфатического узла в остром периоде экспериментальной ишемии-реперфузии печени и в условиях коррек-

ции тромболитическим препаратом «Тромбовазим».

Материалы и методы исследования

Работа проведена на 70 нелинейных крысах-самцах Вистар массой 200-250 г. Все эксперименты выполнены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными приказом Минздрава СССР № 577 от 12.08.77 г. Животные были разбиты на 4 группы: 1) интактные животные (контроль); 2) ишемия-реперфузия печени (6 часов реперфузии); 3) ишемия-реперфузия печени (6 часов реперфузии) в условиях введения тромбозима (доза 20 ед/кг, в объеме 2 мл внутривенно через 2 часа после снятия лигатуры); 4) группа ложно-оперированных животных. Ишемия-реперфузия печени создавалась путем наложения лигатуры на сосудистую «триаду» (а. Hepatica, v. Portae, желчевыводящий проток) на 20 минут (crossclamping of the portal triad) [3] после срединной лапаротомии под эфирным наркозом. У ложно-оперированных животных воспроизводили все хирургические манипуляции без лигирования сосудистой «триады».

Чепик В.И. — н.с. отдела профилактической и экологической лимфологии

Казakov О.В. — канд.б.н., вед.н.с. отдела профилактической и экологической лимфологии, e-mail: kazakov_oleg@mail.ru

Гельфонд Н.Е. — канд.х.н., вед.н.с. отдела профилактической и экологической лимфологии

Шуваева О.В. — канд.х.н., старш.н.с. отдела профилактической и экологической лимфологии

Асташов В.В. — зав. отделом профилактической и экологической лимфологии, доктор медицинских наук, профессор, e-mail: astashov@online.nsk.su

Верещагин Е.И. — д.м.н., профессор, вед.н.с. отдела профилактической и экологической лимфологии

Лекарственный препарат «Тромбовазим» разработан в Институте цитологии и генетики СО РАН, представляет собой протеолитический фермент *Bacillus subtilis*, иммобилизованный на водорастворимом полимере полиэтиленгликоля. В основе лечебного действия тромбовазима выделяют три механизма действия: фибринолитическое, противовоспалительное, антитромботическое [4, 5, 6, 7, 8]. Препарат «Тромбовазим» обладает прямым фибринолитическим действием на тромб, причем это действие имеет практически линейный дозозависимый эффект и сохраняется в течение 2-3 часов после инфузии препарата. В определенной концентрации в крови тромбовазим, «омывая» тромб, постепенно разрушает его, при этом равновесие в системе «пламиноген-плазмин» не нарушается. Важным обстоятельством является то, что применение тромбовазима не является препятствием для последующего применения тромболитиков — активаторов пламиногена, так как их механизмы действия не пересекаются и не потенцируют друг друга.

Эвтаназия животных осуществлялась через 6 часов реперфузии под эфирным наркозом. Для гистологического исследования забирали печеночные лимфатические узлы [9]. По стандартной гистологической методике выполняли проводку материала, заливали объекты исследования в парафиновые блоки, с которых делали гистологические срезы толщиной 5-7 мкм. Срезы окрашивали гематоксилин — эозином и азур II — эозином [10]. Морфометрию срезов и подсчет клеточных элементов производили в отдельных структурно-функциональных зонах исследуемых лимфатических узлов. Морфометрию срезов проводили методом точечного счета с помощью стандартной сетки (256 точек), вмонтированной в окуляр микроскопа МБС-10. Подсчитывали абсолютное количество клеток при помощи окулярной сетки площадью 2025 мкм². Для количественного определения микроэлементного состава печеночного лимфатического узла применяли атомно-эмиссионную спектрометрию с дуговым возбуждением спектров (ДПТ АЭС). Количественный элементный анализ выполнен по 8 элементам (Al, Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn, P). Проведение анализов включало предварительную минерализацию пробы по способу сухого озоления ($t = 450\text{ }^{\circ}\text{C}$, 2,5 часа) на графитовом коллекторе, содержащем 4% хлористый натрий в виде усиливающей

добавки. В качестве образцов для сравнения применяли унифицированную серию на основе графитового порошка с введенными микро- и макроэлементами. Для оперативного контроля правильности применяли метод варьирования навески. Статистическую обработку данных проводили с помощью t-критерия Стьюдента для зависимых выборок и определяли значимость различий. Критический уровень значимости в данном исследовании принимался $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение

Результаты морфометрических исследований структуры печеночных лимфатических узлов в остром периоде экспериментальной ишемии-реперфузии печени и в условиях коррекции препаратом «Тромбовазим» представлены в **таблицах 1 и 2**.

Обобщая полученные результаты, необходимо выделить следующие основные моменты.

Проведенные нами исследования показали, что через 6 часов постишемического периода экспериментальной ишемии-реперфузии печени структурно-функциональная организации печеночных лимфатических узлов не изменяется и, как и у интактных животных, соответствует компактному типу (корково-мозговой индекс — 3,12) (**табл. 1**). При этом отмечается уменьшение площади мозгового вещества на 14,6 %. Выявлены структурные признаки активации клеточного (увеличена площадь тимусзависимой зоны — на 26 %) и угнетение гуморального звена иммунитета (уменьшается площадь В-зависимой зоны — на 24 %, вторичных лимфоидных узелков — на 23,9 % и мозговых тяжей — на 19,3 %). Увеличение объема лимфатического узла, относительной площади краевого синуса (на 63,6 %), расширение промежуточных корковых синусов на фоне сохранения относительной площади мозговых синусов может свидетельствовать о преобладании непрямого пути транспорта лимфы через лимфатический узел, концентрации лимфы внутри лимфатического узла. Повидимому, это может быть связано с тем, что в нарушении транспорта лимфы при эндотоксикозе играет роль парез или, наоборот, спазм отделов лимфатического русла, возрастание коагуляционной способности лимфы, снижение способности лимфатических сосудов к перистальтическим движениям. В структурно-функциональных зонах печеночных лимфатических узлов через 6 часов постишемического периода выявлена акти-

Таблица 1

Относительные площади структурно-функциональных зон печеночных лимфатических узлов через 6 часов реперфузии печени ($M \pm m$), %

Структурно-функциональные зоны	Интактная	6 часов реперфузии	6 часов реперфузии + тромбовазим
Герминативный центр вторичных лимфоидных узелков	$1,4 \pm 0,04$	$1,3 \pm 0,03$	$2,09 \pm 0,06^*$
Мантий вторичных лимфоидных узелков	$16,2 \pm 0,49$	$12,1 \pm 0,35^*$	$11,05 \pm 0,25^*$
Вторичные лимфоидные узелки	$17,6 \pm 0,54$	$13,4 \pm 0,36^*$	$13,14 \pm 0,31^*$
Первичные лимфоидные узелки	$1,18 \pm 0,03$	$0,89 \pm 0,02^*$	$1,02 \pm 0,02$
Корковое плато	$11,9 \pm 0,35$	$8,15 \pm 0,2^*$	$7,23 \pm 0,21^*$
Паракортикальная зона	$39,92 \pm 1,21$	$50,29 \pm 1,2^*$	$42,05 \pm 1,23$
Мозговые тяжи	$21,2 \pm 0,57$	$17,1 \pm 0,5^*$	$27,32 \pm 0,69^*$
Мозговые синусы	$6,2 \pm 0,18$	$6,3 \pm 0,19$	$6,34 \pm 0,29$
Капсула	$1,3 \pm 0,04$	$2,1 \pm 0,06^*$	$0,97 \pm 0,02^*$
Краевой синус	$0,55 \pm 0,02$	$0,9 \pm 0,02^*$	$0,78 \pm 0,02^*$
Трабекула	$0,38 \pm 0,01$	$0,42 \pm 0,01^*$	$1,14 \pm 0,03^*$
Корковое вещество	$70,78 \pm 1,99$	$73,04 \pm 1,99$	$63,44 \pm 1,78^*$
Мозговое вещество	$27,4 \pm 0,912$	$23,4 \pm 0,39^*$	$33,66 \pm 1,02^*$
В-зависимая зона	$51,88 \pm 1,31$	$39,44 \pm 0,98^*$	$48,71 \pm 1,42$
Корково/мозговой индекс	$2,58 \pm 0,07$	$3,12 \pm 0,08^*$	$1,9 \pm 0,05^*$

Примечание: здесь и в таблице 2: «Тромбовазим» — протеолитический фермент, вводился через 2 часа после начала ишемии; уровень значимости различий по сравнению с интактными животными: * - $P < 0,05$.

вация процессов пролиферации (значительно увеличивается количество незрелых форм клеток лимфоидного и плазматического рядов) и угнетение бласттрансформации (уменьшается количество зрелых форм клеток лимфоидного и плазматического рядов), макрофагальная реакция (табл. 2). Отмечаемая тучно-клеточная реакция, по-видимому, может являться одним из проявлений постишемических нарушений локальной гемодинамики, обозначаемой в литературе как феномен неполного восстановления кровотока на уровне микроциркуляторного русла. Вместе с тем восстановление кислородного снабжения в ишемизированных тканях является абсолютно необходимым условием восстановления их функции. Возникающий в процессе ишемии и последующей реперфузии дисбаланс между потребностью ткани в кислороде и его доставкой разобщает тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование и, тем самым, снижает уровень образования АТФ. Полученные в нашем эксперименте данные химического анализа печеночных лимфатических узлов показали, что уже через 6 часов реперфу-

зии в них отмечается уменьшение содержания Са — на 49,2% (контроль $65 \pm 5,3$ мг/кг), Си — на 13,7% (контроль $0,8 \pm 0,05$ мг/кг), Mg — на 81,5 % (контроль $130 \pm 10,5$ мг/кг), Р — на 71,3 % (контроль $1150 \pm 94,3$ мг/кг) [11], что, по-видимому, может свидетельствовать об угнетении биоэнергетических процессов, протекающих в ткани. Отмечается также уменьшение концентрации Al — на 44,3 % (контроль $7 \pm 0,58$ мг/кг), Fe — на 64,5 % (контроль $110 \pm 8,3$ мг/кг), Mn — на 63,7 % (контроль $0,8 \pm 0,06$ мг/кг), Zn — на 68,4 % (контроль $19 \pm 1,2$ мг/кг).

В условиях введения препарата «Тромбовазим» через 2 часа постишемического периода в печеночных лимфатических узлах структурно-функциональная организация, как и у интактных животных, соответствует компактному типу (корково-мозговой индекс — 1,9). По сравнению с экспериментальной группой без коррекции отмечается уменьшение площади коркового и увеличение — мозгового вещества, выявлены структурные признаки активации гуморального звена иммунитета

Таблица 2

Цитоархитектоника структурно-функциональных зон печеночных лимфатических узлов через
6 часов реперфузии печени ($M \pm m$), %

Клеточные элементы	Интактная	6 часов реперфузии	6 часов реперфузии + тромбовазим
Герминативный центр вторичных лимфоидных узелков			
Лимфобласты	$9,15 \pm 0,30$	$12,69 \pm 0,37 *$	$19,0 \pm 0,56*$
Средние лимфоциты	$25,42 \pm 0,82$	$52,07 \pm 1,51 *$	$45,21 \pm 1,33 *$
Малые лимфоциты	$61,6 \pm 1,94$	$23,86 \pm 0,68 *$	$25,23 \pm 0,72 *$
Макрофаги	$2,03 \pm 0,06$	$6,91 \pm 0,2 *$	$8,02 \pm 0,31 *$
Ретикулярные клетки	$1,09 \pm 0,03$	$2,66 \pm 0,08 *$	$1,2 \pm 0,03 *$
Тучные клетки	$0,28 \pm 0,01$	$0,25 \pm 0,007$	$0,68 \pm 0,02 *$
Митозы	$0,63 \pm 0,02$	$1,66 \pm 0,05 *$	$0,71 \pm 0,02$
Паракортикальная зона			
Лимфобласты	$5,53 \pm 0,19$	$3,41 \pm 0,10 *$	$2,08 \pm 0,06 *$
Средние лимфоциты	$25,92 \pm 0,79$	$59,11 \pm 1,72 *$	$55,74 \pm 1,79 *$
Малые лимфоциты	$64,54 \pm 1,95$	$30,2 \pm 0,92 *$	$31,1 \pm 0,91 *$
Макрофаги	$1,8 \pm 0,05$	$3,51 \pm 0,09 *$	$6,14 \pm 0,19 *$
Ретикулярные клетки	$1,46 \pm 0,04$	$1,74 \pm 0,05 *$	$2,42 \pm 0,07 *$
Митозы	$0,48 \pm 0,01$	$1,86 \pm 0,56 *$	$1,11 \pm 0,03 *$
Тучные клетки	$0,35 \pm 0,01$	$0,44 \pm 0,01 *$	$1,34 \pm 0,04 *$
Мозговые тяжи			
Средние лимфоциты	$3,37 \pm 0,12$	$1,01 \pm 0,03 *$	$1,95 \pm 0,06 *$
Малые лимфоциты	$15,72 \pm 0,52$	$1,98 \pm 0,06 *$	$2,19 \pm 0,07 *$
Плазмобласты	$6,04 \pm 0,20$	$18,13 \pm 0,65 *$	$12,66 \pm 0,54 *$
Незрелые плазмоциты	$20,7 \pm 0,72$	$41,2 \pm 1,25 *$	$36,51 \pm 1,13 *$
Зрелые плазмоциты	$47,96 \pm 1,37$	$24,01 \pm 0,72 *$	$22,18 \pm 0,71 *$
Ретикулярные клетки	$2,7 \pm 0,09$	$2,82 \pm 0,09$	$9,31 \pm 0,27 *$
Макрофаги	$2,09 \pm 0,08$	$7,12 \pm 0,24 *$	$8,17 \pm 0,27 *$
Митозы	$1,01 \pm 0,03$	$2,72 \pm 0,08 *$	$1,91 \pm 0,06 *$
Тучные клетки	$0,37 \pm 0,01$	$0,96 \pm 0,03 *$	$1,31 \pm 0,04 *$
Мозговые синусы			
Средние лимфоциты	$17,22 \pm 0,61$	$7,45 \pm 0,21 *$	$5,92 \pm 0,22$
Малые лимфоциты	$54,21 \pm 1,89$	$15,35 \pm 0,53 *$	$13,29 \pm 0,42 *$
Плазмобласты	$2,16 \pm 0,07$	$6,23 \pm 0,21 *$	$8,49 \pm 0,28 *$
Незрелые плазмоциты	$8,12 \pm 0,26$	$25,28 \pm 0,81 *$	$18,24 \pm 0,56 *$
Зрелые плазмоциты	$3,82 \pm 0,12$	$15,02 \pm 0,48 *$	$15,11 \pm 0,48 *$
Ретикулярные клетки	$4,31 \pm 0,14$	$16,79 \pm 0,61 *$	$4,17 \pm 0,14$
Макрофаги	$6,33 \pm 0,11$	$4,59 \pm 0,15 *$	$22,16 \pm 0,74 *$
Тучные клетки	$0,95 \pm 0,03$	$2,35 \pm 0,08 *$	$3,26 \pm 0,01 *$
Митозы	$2,22 \pm 0,07$	$6,27 \pm 0,22 *$	$8,31 \pm 0,26 *$
Эозинофилы	$0,91 \pm 0,03$	$0,65 \pm 0,02 *$	$1,09 \pm 0,03 *$

(увеличиваются площади В-зоны, мозговых тяжей) (табл. 1). Как и в группе без коррекции, в печеночных лимфатических узлах преобладает прямой путь транспорта лимфы. В структурно-функциональных зонах печеночных лимфатических узлов через 2 часа постишемического периода в условиях введения тромбоза выявлено, как и в группе без коррекции, увеличение количества незрелых и уменьшение — зрелых форм клеток лимфоидного и плазматического рядов. Макрофагальная и тучно-клеточная реакции выражены в большей степени, чем в группе без коррекции (табл. 2). По сравнению с группой без коррекции выявлено увеличение содержания практически всех исследуемых микроэлементов: Са — в 2,8 раза, Си — на 30,4 %, Fe — на 89,7 %, Mg — в 8,8 раза, Mn — в 6,9 раза, Zn — в 5 раз, Р — в 2,4 раза. Результаты количественного химического анализа показали, что при введении тромбоза в печеночных лимфатических узлах, как и в группе без коррекции, отмечается уменьшение содержания Al — на 65,7 %, Fe — на 32,7 % и Р — на 30,4 %, по сравнению с интактной группой. Причем уменьшение содержания Fe и Р выражено в меньшей степени.

Результаты исследования в группе ложнопонируемых животных выявили достоверные отличия в структурной организации печеночного лимфатического узла по сравнению с интактными животными.

Заключение

Применение лекарственного ферментного препарата «Тромбозим» в остром периоде ишемии-реперфузии печени, помимо реализации его тромболитической функции, способствует активации барьерно-детоксикационной функции лимфатического региона печени. В регионарных лимфатических узлах печени стимулируется барьерная и лимфопоэтическая функции, что на морфологическом уровне выражается в увеличении относительной площади мозговых тяжей, сохранении дренажной функции, увеличении числа незрелых форм клеток лимфоидного и плазматического рядов, выраженной макрофагально-тучноклеточной реакции. Выявленные морфологические преобразования в печеночных лимфатических узлах свидетельствуют о преодолении нарушений локальной гемодинамики, уменьшении степени эндогенной интоксикации организма в остром постишемическом

периоде ишемии-реперфузии печени при введении препарата «Тромбозим».

Литература

1. Бородин Ю.И., Мичурина С.В. Лимфатический регион печени как маркер экологического прессинга на организм // Морфология. 1998. 113 (3): 27.
2. Borodin Y.I., Michurina S.V. lymphatic region of liver as marker of ecological pressure on an organism // Morphology. 1998. 113 (3): 27.
3. Ходорковский М.Н., Зинчук В.В. Механизмы развития реперфузионных повреждений печени // Журнал Гродненского медицинского университета. 2004. (2): 47-50.
4. Hodorkovskij M.N., Zinchuk V.V. Mechanism of development reperfusion damages of liver // Magazine of Grodno medical university. 2004. (2): 47-50.
5. Messmer K., Menger M.D. Liver Microcirculation and Hepatobiliary Function // Prog Appl Microcirc. Basel-Karger, 1993. (19): 106-124.
6. Мазуров В.И., Лула А.М., Столов С.В., Кнорринг Г.Ю. Опыт применения системной энзимотерапии при некоторых заболеваниях внутренних органов // Цитокины и воспаление. 2002. (3): 18-23.
7. Mazurov V.I., Lila A.M., Stolov S.V., Knorring G.Yu. Experience of application system enzymotherapy at some diseases of internal bodies // Citokines and Inflammation. 2002. (3): 18-23.
8. Becker R.C. New thrombolytic, anticoagulants, and platelet antagonists: the future of clinical practice // J. Thrombosis Thrombolysis. 1999. 7: 195-220.
9. Grigoryev E.G., Kogan A.S. et al. Immobilized proteinases in the treatment of diffuse purulent peritonitis // International Surgery. 1998. 83: 245-249.
10. Vereschagin E.I., Starkova E.V., Chepik V.I. et al. Protective effect of systemic enzyme therapy in hepatic and jejunum ischemia-reperfusion // In the 21st European Conference on Microcirculation (Stockholm, Sweden, June 4-7, 2000) Proceeding volume, 115-118.
11. Jeong Y.K., Park J.U., Baek H., Park S.H. et al. Purification and biochemical characterization of a fibrinolytic enzyme from Bacillus subtilis BK-17 // World J. Microbiol. Biotechnol. 2001. 17: 89-92.
12. Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л. Анатомия крысы (лабораторные животные). СПб.: Издательство «Лань», 2001: 464.
13. Nozdrachev A.D., Polyakov E.L. Anatomy of rat (laboratory animals). StPb.: Publishing house «fallow deer», 2001: 464.
14. Микроскопическая техника: Руководство // Под ред. Д.С.Саркисова и Ю.Л.Перова. М.: Медицина, 1996: 544.
15. Microscopic engineering: (manual) / Under edition D.S.Sarkisova and J.L.Perova. M.: Medicine, 1996: 544.
16. Скальный А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека М.: Мир, 2004: 215.
17. Skal'nyj A.V. Chemical elements in physiology and ecologies of the person. M.: World, 2004: 215.

MORPHOFUNCTIONAL RESEARCH REGIONARY LYMPH NODE AT ISCHEMIA–REPERFUSION OF LIVER IN CONDITIONS CORRECTIONS PREPARATION «TROMBOVASIM»

Valentina Ivanovna CHEPIK, Oleg Vasilievich KAZAKOV, Nataliya Evgenievna GELIFOND, Ol'ga Vasilievna SHUVAEVA, Vadim Vasilievich ASTASHOV, Evgeniy Ivanovich VERESCHAGIN

*Institute of Clinical and Experimental Lymphology Siberian Division Academy of Medical Sciences of Russia
4, Ac. Timakov str., Novosibirsk, 630117*

Application of a medicinal fermental preparation thrombovasim in the sharp period of an ischemia–reperfusion of liver promotes activation barrier- detoxication to function of lymphatic region of liver. In regionary lymph nodes of liver stimulated barrier and lymphopoietic functions (increased the relative area medullary cords, number of unripe forms of cells lymphatic and plasmatic lines, expressed macrophage and of mast cells reaction). At introduction of preparation «Thrombovasim», morphological and bioorganic transformations testify about overcome infringements local hemodynamics, reduction of degree endogenous intoxications of organism in the sharp postischemic period.

Key words: an ischemia – reperfusion, lymph nodes, liver, proteolytic enzymes, macro- and micro elements.

***Chepik V.I.** – scientific employee of division preventive and ecological lymphology*

***Kazakov O.V.** – candidate of biological sciences, leading scientific employee of division preventive and ecological lymphology, e-mail: kazakoff_oleg@mail.ru*

***Gelifond N.E.** – candidate of chemical sciences, leading scientific employee of division preventive and ecological lymphology*

***Shuvaeva O.V.** – candidate of chemical sciences, senior scientific employee of division preventive and ecological lymphology*

***Astashov V.V.** – Head of division preventive and ecological lymphology, doctor of medical sciences, professor, e-mail: astashov@online.nsk.su*

***Vereschagin E.I.** – doctor of medical sciences, professor, leading scientific employee of division preventive and ecological lymphology*