

Морфология лимфомикроциркуляторного русла и лимфатических узлов крыс на этапах регидратации организма инфузией перфторана

К. Ш. Ханахмедова, М. А. Магомедов

Дагестанская государственная медицинская академия, ЦНИЛ

Резюме

Целью исследования явилось изучение влияния регидратации длительно обезвоженного организма перфтораном на лимфомикроциркуляторное русло (брыжейки тонкой кишки и фиброзной капсулы почки) и структуру регионарных лимфатических узлов (брыжеечных и поясничных). Модель сублетального обезвоживания организма достигалась алиментарным путем (полным лишением животных доступа к воде в течение 10 дней). Экспериментальные животные были распределены по группам:

1. Интактные животные — 10 крыс.
2. Крысы, подвергнутые сублетальному обезвоживанию организма до регидратации — 15 крыс.
3. Крысы после регидратации физиологическим раствором (контроль) — 30 крыс.
4. Крысы после регидратации инфузией перфторана — 30 крыс.

Было проведено морфологическое исследование лимфатического русла и лимфатических узлов после длительной дегидратации, которую мы корригировали перфтораном и физиологическим раствором (контроль). При регидратации перфтораном восстановление лимфатического русла происходит полнее, диаметры сосудов к десятому дню превышают интактные параметры. Лимфатические узлы восстанавливаются лучше, увеличиваются клетки лимфоидного ряда в узелках с почти полным восстановлением межклеточных ассоциаций, границы между мягкотными тяжами и синусами становятся четкими.

Ключевые слова: обезвоживание, регидратация, перфторан, лимфатические узлы и сосуды.

Важнейшим депо жидкости в организме является лимфатическая система. При участии лимфатических сосудов через лимфатические узлы проходит (профильтривается) вся лимфа, в которую превращается всосавшаяся в лимфатические капилляры тканевая жидкость вместе с содержащимися в ней продуктами обмена веществ и оказавшимися в тканях чужеродными веществами [1]. Система гемомикроциркуляции в нормальных и патологических условиях является главной системой организма, ответственной за обеспечение адаптивных и компенсаторных реакций [2, 3, 4]. Перфторан, препарат на основе эмульгированных перфторуглеродов, является кровезаменителем с функцией транспорта кислорода. Известно, что перфторан обладает полифункциональными свойствами, а именно увеличивает транспорт кислорода, улучшает центральную гемодинами-

ку и микроциркуляцию, стабилизирует клеточные мембраны [2, 3, 4]. Влияние перфторана на лимфатическое русло и узлы мало изучено, этому и посвящено наше исследование.

Цель работы. Целью исследования явилось изучение влияния регидратации длительно обезвоженного организма перфтораном на лимфомикроциркуляторное русло (брыжейки тонкой кишки и фиброзной капсулы почки) и структуру регионарных лимфатических узлов (брыжеечных и поясничных).

Материалы и методы

Модель сублетального обезвоживания организма достигалась алиментарным путем (полным лишением животных доступа к воде в течение 10 дней) по методике предложенной М. А. Магомедовым (1978), А. Н. Тихомировым (1996).

Исследование проведено на крысах самцах массой 180–200 г. и были распределены по группам:

1. Интактные животные — 10 крыс.
2. Крысы, подвергнутые сублетальному обезвоживанию организма до регидратации — 15 крыс.

Магомедов Магомед Ахмедгаджиевич — профессор кафедры патологической анатомии, директор ЦНИЛ ДГМА;

Ханахмедова Кизлер Ширинбековна — научный сотрудник отдела морфологии ЦНИЛ, ассистент кафедры клинической фармакологии.

Таблица 1. Средние величины диаметров основных звеньев лимфатического русла изученных объектов у крыс в динамике регидратации организма физиологическим раствором (контроль) (в мкм; импрегнация азотнокислым серебром; Ув. Об. 8 Ок.15) ($\bar{X} \pm S_x$)

№№	Сроки обезвоживания	Интактная группа			Сублетальное обезвоживание			3 дня регидратации			6 дней регидратации			10 дней регидратации		
		ЛК	ЛПК	ЛС	ЛК	ЛПК	ЛС	ЛК	ЛПК	ЛС	ЛК	ЛПК	ЛС	ЛК	ЛПК	ЛС
Звенья лимфатического русла																
Объект исследования:																
1	Брыжейка тонкой кишки	65,3±0,01	83,7±0,03	102,7±0,06	35,7±0,09	68,3±0,02	88,0±0,05	37,2±0,01	71,0±0,02*	90,0±0,05	48,4±0,03*	69,1±0,04	93,1±0,02	51,3±0,04	72,0±0,03*	94,0±0,02
2	Фиброзная капсула почки	49,0±0,02	81,2±0,05	94,4±0,01	32,6±0,03	60,1±0,03	82,0±0,04	33,5±0,05*	62,7±0,04	84,2±0,02	37,6±0,03	63,0±0,01	85,5±0,03*	40,3±0,01	63,5±0,04	85,5±0,01*

Примечание. $p < 0,03$ — помечены *, а $p < 0,05$ — не помечены *

ЛК — лимфатический капилляр;

ЛПК — лимфатический посткапилляр;

ЛС — лимфатический сосуд.

3. Крысы после регидратации физиологическим раствором (контроль) — 30 крыс.

4. Крысы после регидратации инфузией перфторана — 30 крыс.

Регидратация проводилась перфтораном (10% эмульсия) или физиологическим раствором (контроль), которые вводились однократно после 10-тидневного обезвоживания в бедренную вену крыс из расчета 30 мг на 100 г массы тела.

Одновременно эти же растворы вводились лимфотропно в количестве 0,2-0,4 мл в межпальцевые промежутки задних конечностей с последующим их массажем и пассивными движениями, т.е. моделированием действия фактора лимфотока. В контрольной и опытной группе животные забивались на 3-6-10 день после инфузии плазмозаменителей путем передозировки нембуталового наркоза. Морфометрический анализ лимфатического русла проведен путем измерения диаметра различных звеньев лимфатического русла изученных объектов с помощью «окуляр-микрометра» при увеличении об. 20, ок. 15. Количество измерений по звеньям в вариационном ряду составило не менее 50.

Для морфометрического анализа лимфатических узлов при сублетальной дегидратации организма и в динамике регидратации изучали площади и клеточный состав структурных компонентов методом точечного счета (с использованием бинокулярного микроскопа «МБС-9» с окулярным микрометром и сеткой при увеличениях от 8x2 до 8x7, в зависимости от размера лимфатического узла), МБИ-1 с морфометрической сеткой С.Б. Стефанова

(1974), смонтированной в окуляр 10 х (объектив 90) и гематологического счетчика.

Все полученные количественные данные распределялись на выборке и подвергались статистической обработке по методу Стьюдента. Рассчитывали среднее значение, среднее квадратичное отклонение, критерии t , степень вероятности. Полученная информация позволила оценить достоверность различий величин и сделать корректное заключение по результатам исследований.

Результаты исследования

При длительной (сублетальной) дегидратации организма крыс внутриорганный лимфатическое русло фиброзной капсулы почки и брыжейки тонкой кишки подвергается глубокой трансформации в виде частичной редукции сетей лимфатических капилляров с формированием бессосудистых и малососудистых зон, деформации стенок большинства лимфатических посткапилляров и сосудов. Лимфатические капилляры и сосуды приобретают извилистый характер хода, значительно уменьшается диаметр их просвета (в брыжеечных капиллярах от $65,3 \pm 0,01$ в интактной группе до $35,7 \pm 0,09$, $p < 0,05$ при сублетальном обезвоживании), а часть микрососудов подвергаются редукции. Установлена большая степень реагирования на дегидратацию лимфатического русла брыжейки тонкой кишки (табл. 1).

Сублетальная дегидратация организма приводит к синхронной, глубокой и однотипной перестройке структуры и цитоархитектоники брыжеечных и поясничных лимфатических узлов, степень выраженности которых зависит

от регионарной принадлежности. При этом значительно уменьшаются их размеры длина до $1,70 \pm 0,27$, ширина до $1,23 \pm 0,94$ (в интактной группе $3,80 \pm 0,50$ и $2,57 \pm 0,21$ соответственно), площадь, занимаемая корой, сокращаются количество и размеры фолликулов лимфатических узлов. Уменьшаются просветы мозговых синусов, их границы между мягкотными тяжами плохо различимы.

Изменения клеточного состава проявляются в виде снижения общего количества лимфоидных клеток в узелках и паракортикальной зоне, росте деструктивно-измененных (от $0,25 \pm 0,17 \times 10^3$ в интактной группе до $14,5 \pm 0,23 \times 10^3$ при сублетальной дегидратации), тучных клеток и макрофагов. Нарушаются типичные межклеточные ассоциации лимфоидных клеток.

По истечению 3-х суток после регидратации организма перфтораном и физиологическим раствором наблюдаются небольшие реконструктивные изменения, в виде тенденции к увеличению просветов звеньев внутриоргана лимфатического русла с сохранением отдельных локальных уменьшений просветов и деформаций микрососудов в фиброзной капсуле почки. Так, максимальная и достоверная степень увеличения диаметров капилляров при регидратации физиологическим раствором (на 6% по сравнению с исходными показателями) выявлена в ФКП и на 7% в БТК. При регидратации перфтораном максимальная степень увеличения диаметров капилляров по сравнению с аналогичными показателями в контроле выявлена в ФКП — 13%, а в БТК — 11%. Лимфатические узлы после регидратации

организма несколько увеличиваются в размерах, которые при регидратации перфтораном составляют большую величину (длина $2,50 \pm 0,23$ мм, ширина $1,97 \pm 0,55$ мм.), чем при регидратации физиологическим раствором ($1,96 \pm 0,21$ и $1,56 \pm 0,77$ мм соответственно). В них возрастает количество лимфоидных узлов с центром размножения и занимаемая ими площадь на срезе. Мозговые синусы и сосуды микроциркуляторного русла коркового плато расширены.

Через 6 суток после регидратации организма перфтораном и физиологическим раствором в контроле обнаруживается существенное увеличение просвета, снижение деформации и истончение стенок всех звеньев лимфоносного русла, с возрастанием плотности расположения сетей лимфатических капилляров. На данном этапе регидратации организма перфтораном обнаруживаются признаки коррекции, касающиеся всех звеньев лимфатического русла, тогда как при контрольной регидратации реконструировалось преимущественно капиллярное звено.

На 6 сутки регидратации организма выявляется дальнейшее увеличение размеров лимфатических узлов, но при регидратации перфтораном длина и ширина узла (на $0,26$ и $0,83$ мм соответственно) выражены больше, чем в контрольной группе. При этом количество и размеры лимфоидных узелков с центрами размножения брыжечных лимфатических узлов при регидратации перфтораном увеличиваются (на $1,60$ по сравнению с исходной группой и $0,9$ по сравнению с 3-х суточным сроком регидратации), а без центра размножения (на $1,10$

Таблица 2. Средние величины диаметров основных звеньев лимфатического русла изученных объектов у крыс в динамике регидратации организма перфтораном (в мкм; импрегнация азотнокислым серебром; Ув. Об. 8 Ок.15) ($X \pm Sx$)

№№	Сроки обезвоживания	Интактная группа			Сублетальное обезвоживание			3 дня регидратации			6 дней регидратации			10 дней регидратации		
		ЛК	ЛПК	ЛС	ЛК	ЛПК	ЛС	ЛК	ЛПК	ЛС	ЛК	ЛПК	ЛС	ЛК	ЛПК	ЛС
Звенья лимфатического русла																
Объект исследования:																
1	Брыжейка тонкой кишки	65,3±0,01	83,7±0,03	102,7±0,06	35,7±0,09	68,3±0,02	88,0±0,05	41,8±0,02*	69,5±0,01	94,5±0,05*	56,9±0,02	78,0±0,03*	99,5±0,05	66,0±0,02*	84,5±0,01	107,3±0,05
2	Фиброзная капсула почки	49,0±0,02	81,2±0,05	94,4±0,01	32,6±0,03	60,1±0,03	82,0±0,04	38,6±0,02*	65,0±0,03*	87,0±0,05	45,0±0,01*	71,8±0,02	90,3±0,04	48,8±0,03	75,5±0,04*	95,2±0,02*

Примечание. $p < 0,03$ — помечены *, а $p < 0,05$ — не помечены *
 ЛК — лимфатический капилляр;
 ЛПК — лимфатический посткапилляр;
 ЛС — лимфатический сосуд.

и 1,0 соответственно), отдельные мозговые синусы расширены. Происходит значительный рост абсолютного числа клеток лимфоидного ряда с одновременным снижением содержания деструктивно-измененных клеток и макрофагов. Со стороны брыжеечных лимфатических узлов при использовании перфторана наблюдается наиболее выраженная перестройка структуры узлов.

При 10-ти суточном сроке регидратации организма перфтораном и физиологическим раствором происходит практически полное восстановление архитектоники внутриорганный лимфомикроциркуляторного русла с возвратом средних значений диаметров к интактным величинам. В лимфатических узлах, особенно при регидратации перфтораном увеличиваются продольный и поперечный размеры, которые несколько превышали аналогичные показатели в интактной группе наблюдения (на 0,10 мм и 0,50 мм соответственно).

Наблюдается дальнейший рост количества и размеров узелков. Их количество с центром размножения превышало аналогичные интактные показатели (от $3,57 \pm 0,40$ до $4,0 \pm 0,30$). Однако количество лимфоидных узелков без центра размножения оставалось меньшим по сравнению интактными цифрами (от $5,60 \pm 0,81$ до $4,10 \pm 0,46$). Восстанавливается четкость границ между мягкотными тяжами и синусами, хотя последние остаются несколько расширенными. Изменения клеточного состава лимфатических узлов проявляются в дальнейшем увеличении клеток лимфоидного ряда в узелках с почти полным восстановлением межклеточных ассоциаций.

Физиологический раствор влияет на средние показатели диаметров микрососудов менее эффективно, диаметры всех звеньев лимфатического русла изученных объектов через 10 дней после регидратации остаются сниженными по сравнению с интактными животными (табл. 1 и 2). При сравнении действия данных препаратов обращают внимание имеющиеся видимые преимущества корректирующего эффекта перфторана.

По сравнению с физиологическим раствором перфторан является эффективным протектором мембран эндотелиальных и эпителиальных клеток при коррекции эксикоза, что согласуется с более полным восстановлением к 10-му дню регидратации внутриорганный мик-

роциркуляции, особенно в брыжейке тонкой кишки.

Результаты наших исследований свидетельствуют о том, что перфторан способен более эффективно, чем физиологический раствор влиять на параметры восстановления тканей при их ишемическом повреждении. Перфторан состоит из субмикронных частиц, глубоко проникающих в гипоксическую ткань, кроме того, сам перфторан способен переносить и освобождать кислород при контакте с поверхностью эндотелия. Известно, что перфторан содержит проксанол, положительное действие которого, связано с уменьшением вязкости крови, снижением агрегации форменных элементов, что способствует улучшению микроциркуляции [6].

Использование перфторана в комплексе мероприятий, направленных на коррекцию эксикоза, на наш взгляд является вполне оправданным, поскольку он (по сравнению с физиологическим раствором) является хорошим протектором в отношении коррекции синхронных морфофункциональных изменений лимфатических узлов разной локализации и лимфатических сосудов в ходе регидратации организма. При этом степень и скорость развития реконструктивных изменений зависят от регионарной принадлежности лимфатических сосудов и узлов.

Литература

1. Сапин М. Р. Новый взгляд на лимфатическую систему и ее место в защитных функциях организма. *Морфология*, 1997; 112 (5): 84-87.
2. Гудимов С. В. Изменение реологических свойств крови при обезвоживании организма. В кн.: *Экспериментальные и клинические аспекты адаптации микроциркуляции*. Ярославль, 1995: 15-18.
3. Новиков И. И., Тихомиров А. Н., Соколова Е. А., Сустров В. Б. Роль лимфатического звена системы микроциркуляции в иммобилизации. В кн. науч. тр., посвящ. памяти акад. Д. А. Жданова. М., 1998: 75-76.
4. Петренко В. М. Лимфатический узел: макро- и микроорганизация, ее физические основы и моделирование. В кн.: *Структурно-функциональные основы лимфатической системы*. — СПб.: изд. СПб ГМА, 1998: 46-54.
5. Голубев А. М. Перфторан — плазмозаменитель с функцией транспорта кислорода. *Бюл. эксперимент. биологии и медицины*, 1998; 125 (5): 484-492.
6. Жукова А. Г., Сазонтова Т. Г., Аркадьева И. В., Мороз В. В. Моделирующее действие перфторана на соотношение про- и антиоксидантных систем в разных органах. *Общая реаниматология*, 2006; II. (1)
7. Ковеленов А. Ю. Перфторорганические соединения в биологии и медицине. Пущино, 2001: 70-76.