

УДК 612.42:616-005.4

ЛИМФОТОК И СОКРАТИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Булекбаева Л.Э., Демченко Г.А., Ерлан А.Е.

Институт физиологии человека и животных МОН РК, Алматы, e-mail: lbulekbaeva@gmail.com

При ишемии-реперфузии головного мозга крыс, вызванной окклюзией двух общих сонных артерий сроком на 30 мин, отмечено снижение напряжения кислорода в крови, ацидоз крови и лимфы, уменьшение лимфотока из грудного протока и угнетение спонтанной и индуцированной сократительной активности шейных лимфатических узлов. Частота и амплитуда спонтанных сокращений узлов снижались на 30–60%, соответственно. При нанесении на лимфатические узлы после ишемии-реперфузии головного мозга vasoактивных веществ (адреналина, ацетилхолина, гистамина, 10^{-9}M – 10^{-3}M) отмечены сократительные реакции узлов с более низкой частотой и амплитудой, чем в контроле. Применение препарата семакса, обладающего антиоксидантными и антигипоксическими свойствами, повышало гипоксическую устойчивость организма к дефициту кислорода и снижало степень повреждающего действия гипоксии на транспортную функцию лимфатических сосудов и узлов.

Ключевые слова: лимфоток, лимфатические узлы, сократительная активность

LYMPH FLOW AND CONTRACTILE ACTIVITY OF LYMPH NODES IN CEREBRAL ISCHEMIA OF RATS

Bulekbayeva L.E., Demchenko G.A., Yerlan A.E.

The Institute of Human and Animal Physiology, MES RK, Almaty, e-mail: lbulekbaeva@gmail.com

Ischemia-reperfusion in rat brain induced by occlusion of both common carotid arteries for 30 min, decreased oxygen tension in the blood, acidosis of blood and lymph circulation, reduction of the thoracic duct lymph flow and inhibition of spontaneous and induced contractile activity of cervical lymph nodes. The frequency and amplitude of spontaneous contractions of nodes decreased by 30–60%, respectively. When applied to the lymph nodes after ischemia-reperfusion brain vasoactive substances (adrenaline, acetylcholine, histamine, 10^{-9}M – 10^{-3}M) marked contractile responses of nodes with lower frequency and amplitude than in controls. Use of the drug Semax that has antioxidant properties and antihypoxic, increased hypoxic tolerance to oxygen deficiency and reduced the degree of the damaging effect of hypoxia on the transport function of lymphatic vessels and nodes.

Keywords: lymph of flow, lymph nodes, contractile activity

Ишемия является наиболее распространенной причиной нарушения функций мозга и часто встречается при заболеваниях сердечно-сосудистой системы. Известно, что ишемия головного мозга и постишемический период приводят к гипоксии, ацидозу, снижению синтеза оксида азота, нарушению микроциркуляции, увеличению количества свободных радикалов и развитию клеточной гипергидратации [1, 2]. Проблемы теоретической и клинической лимфологии привлекают внимание ученых, поскольку ряд важных функций организма как водно-солевой обмен, транспорт воды и белков через транскапиллярный барьер, явления отеков тесно связаны с функциями лимфатической системы [3]. Сведения в литературе о состоянии лимфатической системы при ишемии органов немногочисленны. В наших предыдущих работах при кратковременной окклюзии краниальной брыжеечной артерии у собак и крыс наблюдались сдвиги артериального давления, лимфотока и угнетение сократительной активности брыжеечных лимфатических узлов [4, 5], нарушения реологических свойств крови и лимфы при кратковременной ишемии головного мозга и задней конечности крыс [6]. При ишемии-реперфузии тонкого кишечника у кроликов

породы Шиншилла отмечено увеличение пула свободных жирных кислот в афферентной лимфе по сравнению с нормой [7]. Изучение дренажной функции лимфатической системы при окклюзии магистральных артерий головного мозга в эксперименте поможет пролить свет на механизмы динамики ишемии и разработать способы коррекции гипоксической устойчивости организма к дефициту кислорода.

Цель работы – изучить лимфоток и транспортную функцию шейных лимфатических узлов при ишемии-реперфузии головного мозга крыс и на фоне коррекции семаксом.

Материалы и методы исследования

Опыты проведены на 55 половозрелых крысах-самцах массой тела 170–220 г, наркотизированных эфиром. Ишемию головного мозга крыс проводили путем окклюзии обеих общих сонных артерий в области шеи сроком на 30 мин. Затем у крыс в течение 1–3 часов проводили реперфузию мозга и извлекали шейные лимфатические узлы для исследования. У крыс регистрировали ток лимфы из грудного протока ниже диафрагмы. Были взяты пробы крови и лимфы для анализов. Определяли морфологический состав крови, напряжение кислорода в крови, pH лимфы и крови на гематологическом анализаторе SYSMEX KX-219 9 (Япония) и на анализаторе серии Gastat-600 Techno medica (Япония). Содержание об-

шего белка в плазме крови и лимфе определяли с использованием препаратов фирмы «Витал» на анализаторе «Annalett». В камере Горяева с сеткой Бюркера определяли число лейкоцитов в лимфе, лейкоцитарную формулу – в сухих мазках лимфы, окрашенных по методу С.П. Романовского. Изолированные шейные лимфатические узлы помещали на установку, состоящую из термостатируемой камеры, механотронов 6МХ1С и компьютера с автоматической системой записи результатов. Питательным раствором для изолированных узлов служил оксигенированный раствор Кребса с температурой +37–38 °С. Для вызова сократительных реакций лимфатических узлов использовались растворы вазоактивных веществ: адреналина, ацетилхолина и гистамина в концентрациях 10^{-9} – 10^{-3} М. Для защиты головного мозга от повреждающего действия гипоксии использовался препарат семакс, представляющий собой синтетический полипептид, лишенный гормональной активности, однако, обладающий антиоксидантными и антигипоксическими свойствами [8]. Семакс вводился в/б в дозе 150 мкг/100 г массы тела через 15 мин и второй раз через 60 мин от начала окклюзии артерий.

Полученный материал обработан статистическим методом с использованием критерия Стьюдента на ЭВМ.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследований показали, что у интактных крыс напряжение кислорода в крови составляло 136 ± 4 мм рт. ст. После ишемии головного мозга оно снижалось до 87 ± 5 мм рт. ст., т.е. уменьшалось на 37%. Лимфоток из грудного протока в состоянии относительного покоя составил $0,30 \pm 0,01$ мл/час и, снижаясь через 60 мин от начала реперфузии, достигал $0,21 \pm 0,01$ мл/час, т.е. снижался на 30%, а через 3 часа равнялся $0,24 \pm 0,01$ мл/час.

Число эритроцитов в крови при ишемии возрастало от $4,32 \cdot 10^6 \pm 0,07$ до $6,9 \cdot 10^6 \pm 0,05$ мкл, число лейкоцитов – от $2,1 \cdot 10^3 \pm 0,01$ до $3,9 \cdot 10^3 \pm 0,01$ мкл, количество тромбоцитов повышалось от $232 \cdot 10^3 \pm 10$ до $412 \cdot 10^3 \pm 17$ мкл. Гематокрит увеличивался от $47,5 \pm 0,6$ в норме до $49,5 \pm 0,8$ после окклюзии артерий и реперфузии мозга, уровень гемоглобина возрастал от $13,8 \pm 0,2$ до $14,9 \pm 0,4$ %. Эти данные свидетельствуют о компенсаторной реакции системы крови в ответ на гипоксию мозга, направленной на ликвидацию дефицита кислорода, что согласуется с данными других авторов [2]. рН крови и лимфы изменялся в сторону ацидоза. Известно, что рН лимфы имеет более щелочную реакцию (7,56–8,7), чем кровь и границы его сдвигов в лимфе более широкие и менее регламентированы, чем для рН крови [9].

Содержание общего белка в плазме крови у крыс снижалось от $69,2 \pm 1,5$ г/л

до $52,6 \pm 1,7$ г/л после реперфузии головного мозга, в лимфе от $46,5 \pm 1,8$ до $33,21 \pm 1,6$ г/л. Согласно лейкоцитарной формуле, клетки в лимфе у крыс на 98–99% представлены лимфоцитами и на 1–2% – моноцитами. Через 30 мин после ишемии мозга число лимфоцитов в лимфе возросло на 20–25%, а через 3 часа снижалось до нормального уровня. Увеличение числа лимфоцитов в лимфе в первые часы ишемии мозга можно оценить как компенсаторный выброс их из лимфатических узлов для доставки в кровеносное русло и пополнения состава крови. По данным литературы, лимфоциты поступают в кровь в основном из лимфоидных органов, поставляющих в кровь основную массу лимфоцитов [9].

У интактных крыс наблюдалась отчетливо выраженная спонтанная сократительная активность изолированных шейных лимфатических узлов в виде фазных ритмических сокращений с частотой $3,0 \pm 0,4$ сокр./мин и амплитудой $8,0 \pm 0,3$ мг. У них на действие вазоактивных веществ были отмечены сократительные реакции шейных лимфатических узлов. Адреналин в концентрации 10^{-8} – 10^{-3} М при нанесении на шейные лимфатические узлы вызывал возрастание их ритма на 162 ± 12 % и увеличение амплитуды сокращений на 129 ± 17 % от исходного фона. Ацетилхолин (10^{-8} – 10^{-3} М) вызывал увеличение частоты сокращений узла на 142 ± 13 % и амплитуды на 130 ± 12 % от исходных значений. Аналогичные реакции вызывал гистамин (10^{-8} – 10^{-3} М) при действии на шейные лимфатические узлы. Пороговая доза вазоактивных веществ для вызова сократительных реакций узлов у интактных крыс составляла 10^{-8} М.

Ишемия-реперфузия головного мозга (через 1 час от начала реперфузии) у крыс вызывала подавление спонтанной сократительной активности узлов и лишь в 55% опытов отмечена спонтанная ритмическая или тоническая активность. Частота сокращений узлов составляла $2,0 \pm 0,1$ сокр./мин, величина амплитуды – $3 \pm 0,2$ мг (рис. 1). Индуцированные сократительные реакции шейных лимфатических узлов в ответ на действие вазоактивных веществ в концентрации 10^{-4} – 10^{-6} М наблюдались в 50% опытов.

После окклюзии сонных артерий сократительные реакции узлов при действии адреналина были выявлены в 55% опытов с уменьшением как амплитуды, так и частоты сокращений узлов. Амплитуда сокращений снижалась на 20%, а частота – на 46% по сравнению с реакциями, которые наблюдались у интактных животных (рис. 2).

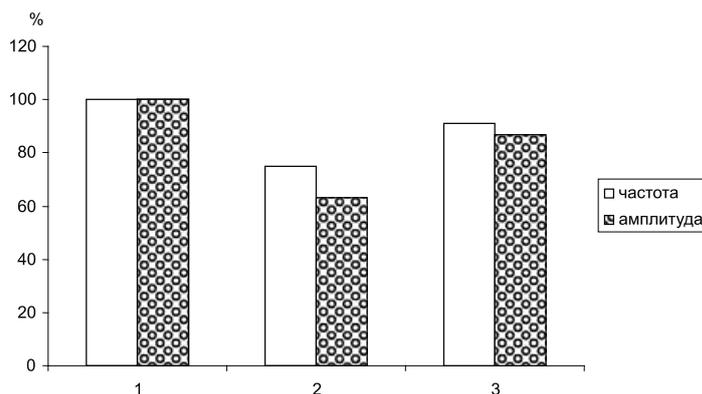


Рис. 1. Частота и амплитуда спонтанных сокращений шейных лимфатических узлов в контроле (1 группа, принята за 100%), после ишемии мозга (2 группа) и на фоне коррекции семаксом (3 группа). Обозначения: по оси ординат – сдвиги сокращения узлов в %, по оси абсцисс: 1, 2, 3 – группы животных

После окклюзии сонных артерий сократительные реакции узлов при действии адреналина были выявлены в 55% опытов с уменьшением как амплитуды, так и частоты

сокращений узлов. Амплитуда сокращений снижалась на 20%, а частота – на 46% по сравнению с реакциями, которые наблюдались у интактных животных (рис. 2).

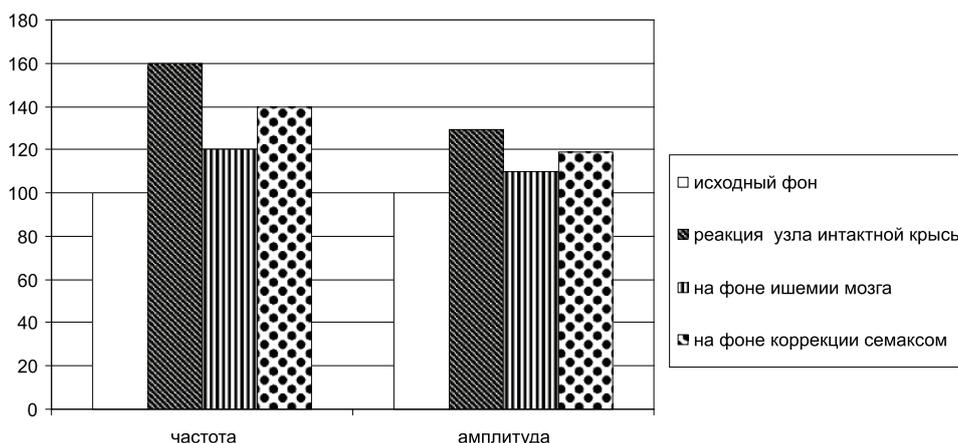


Рис. 2. Сократительная реакция шейных лимфатических узлов на действие адреналина ($1 \cdot 10^{-3}$ M). Обозначения – первый столбик – исходный фон, принятый за 100%, второй – реакция узла у интактной крысы, третий столбик – на фоне ишемии-реперфузии мозга и четвертый столбик – на фоне коррекции семаксом. Обозначения: по оси ординат – величина сдвигов сокращений в %, исходный принят за 100%, по оси абсцисс: частота и амплитуда сокращений

Сократительные реакции шейных лимфатических узлов в ответ на действие ацетилхолина были обнаружены лишь в 35% опытов и их величина была снижена. Уменьшались как частота (на 40%), так и амплитуда сокращений (на 43%) гладкомышечных клеток лимфатических узлов, особенно при реперфузии мозга. Гистамин при нанесении на узел вызывал сократительные реакции узлов в 38% опытов: уменьшались амплитуда и частота сокращений (рис. 3). Пороговые дозы вазоактивных веществ для вызова сокращений узлов после ишемии-реперфузии мозга повышались на два поряд-

ка, до 10^{-6} M по сравнению с контрольным значением 10^{-8} M.

В 10 опытах у животных (3-я группа), подверженных ишемии-реперфузии головного мозга и получавших семакс по вышеизложенной схеме, спонтанная сократительная активность шейных лимфатических узлов была подавлена в меньшей степени, чем у тех крыс, которые не получали вышеуказанный препарат (см. рис. 1). Однако величина индуцированных сокращений узлов в ответ на действие вазоактивных веществ после коррекции семаксом была на 10–12% ниже, чем у интактных крыс (рис. 2, 3).

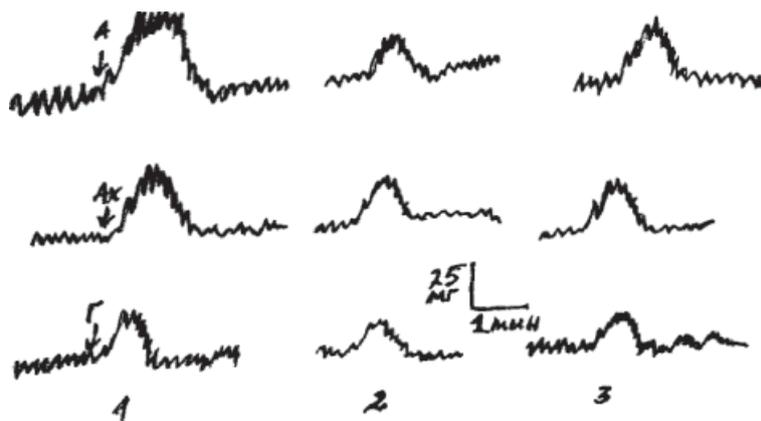


Рис. 3. Сократительные реакции шейных лимфатических узлов до, после ишемии-реперфузии головного мозга и коррекции семаксом. Обозначения: 1 – сократительная реакция узла у интактной крысы; 2 – реакция узла на фоне ишемии-реперфузии головного мозга; 3 – после дачи семакса; А – адреналин, Ах – ацетилхолин, Г – гистамин ($1 \cdot 10^{-6}$, $1 \cdot 10^{-4}$ М)

Лимфоток в этих опытах составил $0,27 \pm 0,01$ мл/час и был на 10% ниже, чем у интактных крыс. При ишемии-реперфузии головного мозга без использования семакса лимфоток снижался на 30% от исходного значения, о чем упоминалось выше. Содержание общего белка в плазме крови и лимфе было на 10% выше, чем во 2-й группе крыс, которые подвергались ишемии головного мозга, но не получали семакс.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при кратковременной окклюзии общих сонных артерий в результате повреждающего действия гипоксии на гладкомышечные клетки лимфатических сосудов и узлов, снижаются лимфоток и транспортная функция шейных лимфатических узлов. Ухудшение дренажа тканей лимфатических узлов при гипоксии негативно отражается на функциональном состоянии гладкомышечных клеток и их сократительной функции. В результате угнетается спонтанная сократительная активность узлов, уменьшается величина индуцированных сократительных реакций, чувствительность рецепторов узлов к действию вазоактивных веществ и повышается их порог раздражения. Применение препарата семакса при ишемии-реперфузии головного мозга в наших опытах оказывало защитный эффект на гомеостаз мозга, повышало гипоксическую устойчивость организма к дефициту кислорода и снижало степень нарушений лимфотока и транспортной функции лимфатических узлов.

Список литературы

- Петрищев Н.Н., Власов П.Д. Функциональное состояние эндотелия при ишемии-реперфузии // Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. – 2000. – Т.86, №2. – С. 148–163.
- Власов П.Д. Реактивность сосудов и параметры тромбообразования при постишемической реперфузии. Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. – 1999. – Т.85, №11. – С. 1391–1395.

- Бородин Ю.И. 50 лет лимфологии // Проблемы лимфологии и интерстициального массопереноса: материалы науч. конф. с междунар. участием, посвящ. 75-летию со дня рождения и 50-летию науч.-педаг. деятельности Ю.И. Бородина (Новосибирск, 1-3 июня 2004 г.). – Новосибирск, 2004. – С. 5–12.
- Булекбаева Л.Э., Демченко Г.А., Вовк Е.И. Лимфодинамика при ишемии/реперфузии тонкого кишечника // Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. – 2005. – Т. 91, №12. – С. 1441–1444.
- Жумадина Ш. М., Булекбаева Л. Э. Развитие механизмов регуляции гемо- и лимфодинамики в филогенезе позвоночных животных. – Алматы: Изд-во Медиа-Пресс, 2007. – 128 с.
- Влияние окклюзии сонных артерий на реологические свойства и ионный состав крови и лимфы / Л.Э. Булекбаева, Г.А. Демченко, С.Н. Абдрешов, З.Ш. Смагулова, А.Е. Ерлан // Научно-мед. ж. Российский клинико-фармацевтический вестник. – 2009. – №1. – С. 45–46.
- Асташова Т.А., Казакова Е.С. Роль лимфатической системы в регуляции окислительного гомеостаза в норме, при циркуляторных нарушениях и коррекции // Проблемы лимфологии и интерстициального массопереноса: материалы науч. конф. с междунар. участием, посвящ. 75-летию со дня рож. и 50-летию науч.-пед. деятельности Ю.И. Бородина (Новосибирск, 1-3 июня 2004 г.). – Новосибирск, 2004. – С. 230–233.
- Защита сердца и мозга от ишемических повреждений с помощью пролин-содержащего пептида семакс / С.А. Гаврилова, А.В. Голубева, Э.Р. Басырова, Т.В. Липина, Е.С. Фоминых, Е.Н. Вареник, Х.Л. Гайнутдинов, В.В. Андрианов, Г.Г. Яфарова // Механизмы функционирования висцеральных систем: тез. докл. VII Всеросс. конфер. с междунар. участием. (Санкт-Петербург, 29 сент. – 02 октяб. 2009 г.). – СПб., 2009. – С. 113–114.
- Foldi M., Casley-Smith J.K. Lymphangiology. Springer. – Stuttgart New-York, 1983. – 700 p.

Рецензенты:

Тулеуханов С.Т., д.б.н., профессор, зав. кафедрой физиологии человека, животных и биофизики Казахского национального университета им. аль-Фараби Министерства образования и науки Республики Казахстан, г. Алматы;

Соколов А.Д., д.м.н., профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии Казахского национального медицинского университета им. С.Д. Асфедиярова, г. Алматы.

Работа поступила в редакцию 07.07.2011.