

УДК 612.42+575.321

Н.А. АХМЕТБАЕВА, Л.Э. БУЛЕКБАЕВА, А.Е. ЕРЛАН

АДРЕНЕРГИЧЕСКАЯ ИННЕРВАЦИЯ ЛИМФАТИЧЕСКИХ СОСУДОВ И УЗЛОВ ПРИ КОРРЕКЦИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ ЗАДНЕЙ КОНЕЧНОСТИ ЦИТОФЛАВИНОМ

Институт физиологии человека и животных, г.Алматы

(Представлена академиком НАН РК К.Т. Тащеновым)

С помощью гистохимического флуоресцентного метода визуализации катехоламинов изучалась адренергическая иннервация в ткани подколенного лимфоузла после перевязки бедренной артерии и коррекции ишемии цитофлавином в течение разных периодов времени (14, 30, 90 дней). После 14-дневной коррекции ишемии наблюдали освобождение катехоламинов из терминальных нервных волокон и варикозных расширений. Через 30 и 90 дней коррекции ишемии сосудистая адренергическая нервная сеть сохранялась в той степени, в какой сохранены микрокровеносные сосуды в ткани лимфатического узла.

Изучение состояния лимфатической системы при ишемии конечностей, ишемической сердечной недостаточности, ишемии мозга представляет большой интерес. Так, при остром инфаркте было отмечено ухудшение передачи сигналов при стимуляции симпатического нерва [1]. При моделировании ишемии миокарда на раннем этапе наблюдалось развитие фибрилляции желудочков, что связывают с выбросом норадреналина из симпатических нейронов [2]. Окклюзия левой огибающей коронарной артерии вызывала снижение адренергической иннервации миокарда [3].

При острой ишемии головного мозга у крыс обнаружено усиление спонтанной и вызванной сократительной активности изолированных препаратов сонной артерии и яремной вены [4].

При пережатии бедренной артерии у собак было отмечено повышение артериального давления выше места перевязки, а также давление лимфы в регионарных лимфатических сосудах. Выявлено уменьшение разницы в степени контрастирования коркового и мозгового вещества лимфатического узла. Отмечено снижение пропускной способности лимфоузлов, то есть «дефицит оттока» лимфы [5].

Острая ишемия задней конечности, вызванная окклюзией общей подвздошной артерии приводило к снижению уровня норадреналина, что считают, связано с нарушением проводимости аксонов из симпатических нервных окончаний в скелетной мышце [6].

В результате поиска препаратов с протекторными свойствами при ишемии мозга и нижних конечностей нами были выбраны препараты семакс и цитофлавин. Цитофлавин – комплексный препарат, включающий в себя в качестве активных компонентов сукцинат натрия, никотинамид, рибоксин и рибофлавин мононуклеотид. Цитофлавин, как энерготропное средство, занимает ведущее место по экстренности воздействия на фоне развивающейся тканевой гипоксии [7]. Препарат семакс уменьшает окислительный стресс в тканях головного мозга при ишемическом инсульте [8].

Целью настоящего исследования явилось изучение адренергического нервного аппарата в ткани подколенного лимфатического узла при ишемии задней конечности в течение трех месяцев (14, 30, 90 дней) и коррекции цитофлавином.

Материалы и методы

Крысам при легком эфирном наркозе перевязывали бедренную артерию в верхней третьей бедра. Цитофлавин вводили внутрибрюшинно в дозе 1,5 мг/кг 2 раза в сутки. Действие препарата изучали через 2 недели (10 крыс), через 1 месяц (10), через 3 месяца (10) и у контрольных (5) крыс. В ткани подколенного лимфатического узла изучалась адренергическая иннервация.

Симпатический иннервационный аппарат лимфатических узлов изучали с помощью специфического гистохимического метода выявления адренергических нервных структур в ткани [9, 10].

После декапитации животного выделялся подколенный лимфатический узел, который инкубировали в 2% растворе глиоксалевой кислоты при pH=7,0. Из лимфатического узла готовились криостатные срезы толщиной 10-20 мкм. В опытах использовано 35 крыс. Было проанализировано под люминесцентным микроскопом Люмам (Zeiss) около 200 тотальных и криостатных препаратов.

Результаты и их обсуждение

Подколенный лимфоузел у интактных крыс в среднем имеет диаметр 0,3-0,5 см. Рядом с крупным лимфоузлом имеются несколько (2-3) мелких узлов. Количество артерий, проникающих в лимфатические узлы, пропорционально величине узла.

В ткани подколенного лимфатического узла было выявлено, что наибольшее количество адренергических нервных волокон расположено в околофолликулярной области лимфоузла, которые образуют адренергическое нервное кольцо, иннервирующее фолликулы. Фолликулярная иннервация образуется, в основном, за счет отдельных единичных адренергических волокон. Кроме околофолликулярного адренергического кольца имеется адренергическое сплетение, образующееся по направлению кровеносных сосудов, питающих ткань лимфоузла. Адренергические нервные волокна, относящиеся к кровеносным сосудам, имеют больше варикозных утолщений и флуоресценция их более высокая, что указывает на большую концентрацию норадреналина в этих нервных волокнах (рис. 1).

Таким образом, ткань лимфатического узла получает иннервацию в большей степени через адренергическую иннервацию кровеносных сосудов лимфоузла. Такой тип адренергической иннервации ткани считается непрямой. Следовательно, в ткани лимфатического узла преобладает непрямой тип сосудодвигательной иннервации.

С использованием цитофлавина у крыс **после 2-недельной хронической ишемии** задней конечности в ткани подколенного лимфатического узла наблюдается незначительное кровенаполнение кровеносной судистой сети, питающей ткань лимфоузла. Адренергические нервные волокна (НВ), сопровождающие *vasa vasorum* (VV) (рис. 2) и варикозные расширения (ВР) нервных волокон, имеют диффузный харак-

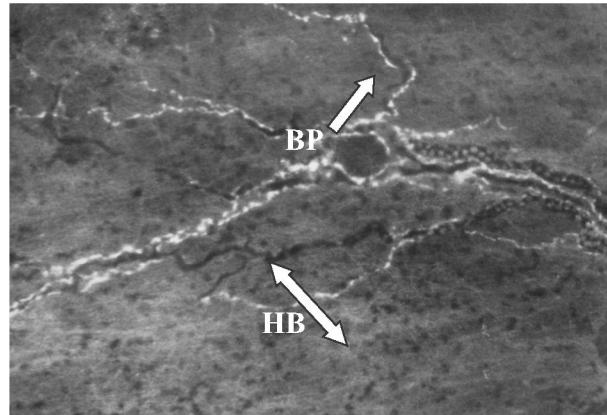


Рис.1. Адренергическая иннервация капсулы подколенного лимфатического узла интактной крысы (стрелкой указаны флуоресцирующие нервные волокна – НВ и варикозные расширения – ВР).
Об.30. Ок, рк 6,3x

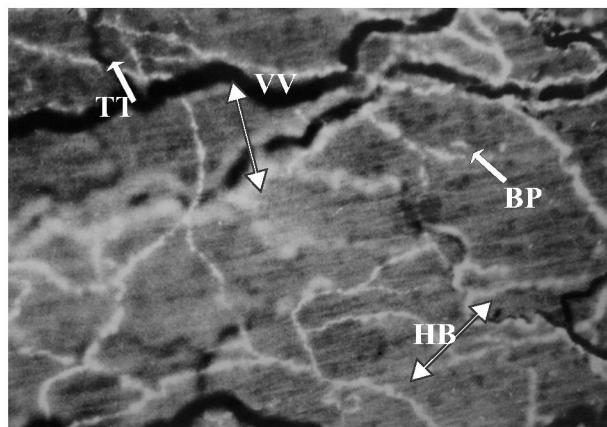


Рис. 2. Состояние адренергического нервного сплетения подколенного лимфоузла крысы после 14-дневной коррекции ишемии задней конечности. Наблюдается выброс катехоламинов из адренергических нервных окончаний, кровенаполнение микрораковинных сосудов ткани лимфоузла.
Об.30. Ок, рк 6,3x

тер. Самостоятельные тонкие терминали (ТТ) сохраняются, однако, флуоресценция нервных волокон слабее, чем у интактных животных. Концевые варикозные расширения приобретают нерегулярный характер и обладают слабым свечением. Катехоламины, освобожденные в процессе диффузии, могут, видимо, участвовать в активировании адренорецепторов лимфатического узла, что оказывает влияние на его функциональное состояние. Наблюданное нами освобождение катехоламинов при выявленной диффузии может активировать адренорецепторы лимфатического узла.

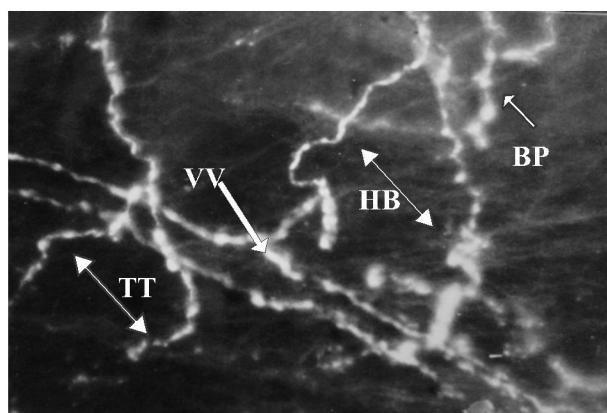


Рис. 3. Адренергические нервные волокна в капсule подколенного лимфатического узла крысы после 3-месячной коррекции ишемии задней конечности.
Обозначения: ТТ - тонкие терминали; ВВ- vasa vasorum; НВ-нервные волокна; ВР-варикозные расширения.
Об.30. Ок, рк 6,3х

У крыс после 30-дневной коррекции ишемии задней конечности в ткани лимфатического узла околофолликулярные нервные волокна сохранялись, однако, по сравнению с интактными животными даже в условиях коррекции имели слабую флуоресценцию. Местами наблюдаются слабосветящиеся прерывистые нервные волокна. Пучки нервных волокон в адренергической нервной сети, сопровождающих микрокровеносные сосуды, имеют более яркую флуоресценцию, чем самостоятельные нервные волокна. В самостоятельных нервных волокнах, в претерминальной части варикозные утолщения имеют регулярный характер по сравнению с варикозными утолщениями в терминальной части. Терминальные варикозные расширения приобретают единичный характер. По сравнению с флуоресценцией нервных волокон и варикозных их утолщений в ткани лимфатического узла у интактных крыс, флуоресценция нервных структур в ткани лимфоузла у крыс с одномеречной коррекцией ишемии задней конечности снижается на 30-40%.

У крыс после 3-х месячной коррекции ишемии задней конечности в ткани подколенного лимфоузла сохраняются фолликулярные одиночные нервные волокна. Околососудистая адренергическая нервная сеть сохраняется в той степени, в какой сохранены микрокровеносные сосуды в ткани лимфатического узла (рис. 3).

Таким образом, внутрибрюшинное введение цитофлавина, как видно из наших данных, препятствует значительному нарушению структуры

адренергического иннервационного аппарата лимфатических узлов. Однако, даже при использовании цитофлавина в первые 2 недели была отмечена диффузия катехоламинов из нервных структур. Выявлено снижение флуоресценции терминальных нервных волокон. Концевые варикозные утолщения были нерегулярными и имели слабое свечение. После 30 и 90 дней коррекции ишемии задней конечности сосудистая адренергическая нервная сеть сохраняется в той степени, в какой сохранены микрокровеносные сосуды в ткани лимфатического узла.

ЛИТЕРАТУРА

1. Martins J.B., Kerber R.E., Marcus M.L., Laughlin D., Levy D.M. Inhibition of adrenergic neurotransmission in ischemic regions of the canine left ventricle // *Cardiovasc. Res.* 1980. V.14, № 2. P.116-124.
2. McDonald F.M., Knopf H., Hartono S., Polwin W., Bischoff A., Hirche Hj., Addicks K. Acute myocardial ischemia in the anesthetized pig: local catecholamine release and its relation to ventricular fibrillation // *Basic Research in Cardiology*. 1986. V.81, № 6, P.636-645.
3. Roth D.M., White F.C., Mathieu-Costello O., Guth B.D., Heusch G., Bloor C.M., Longhurst G.C. Effects of left circumflex Ameroid constrictor placement on adrenergic innervation of myocardium // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1987. V.253 № 6, P. 1425-1434.
4. Жумадина Ш.М., Булекбаева Л. Э. Развитие механизмов регуляции гемо- и лимфодинамики в филогенезе позвоночных животных. Алматы. 2007. 171 с.
5. Бородин Ю.И., Григорьев В.Н. Лимфатический узел при циркуляторных нарушениях. Новосибирск. 1986. 238 с.
6. Tokunaga N., Yamazaki T., Akyama T., Sano S., Mori H. Acute limb ischemia does not facilitate but inhibits norepinephrine release from muscle sympathetic nerve endings in anesthetized rabbit // *Cardiovasc. pharmacol.* 2003. V. 42, № 1, P.7-10.
7. Бульон В.В., Хныченко Л.К. и др. Метаболические эффекты цитофлавина и пирацетама при острой экспериментальной ишемии мозга и в процессе его реинфузии // Фундаментальные исследования. 2007. № 3, С. 74-78.
8. Власова И.М., Салецкий А.М. Спектроскопические флуоресцентные методы исследований нейропротекторных свойств препарата семакс при ишемическом инсульте // Альманах клинической медицины. 2008. № 17-1, С. 45-48.
9. Falck B., Hillarp N.A., Thieme G., Torp A. Fluorescence of catecholamine and related compounds with formaldehyde // *J. Histochem. and Cytochem.* 1962 V.10, P.348-355.
10. Говырин В.А. Адаптационно-трофическая функция сосудистых нервов // Развитие научного наследия акад. Л.А. Орбели. - Л.:Наука, 1982. С.169-181.

References

1. Martins J.B., Kerber R.E., Marcus M.L., Laughlin D., Levy D.M. *Cardiovasc. Res.*, 1980, 14, 2, 116-124.

2. McDonald F.M., Knopf H., Hartono S., Polwin W., Bischoff A., Hirche Hj., Addicks K. *Basic Research in Cardiology*, **1986**, 81, 6, 636-645.

3. Roth D.M., White F.C., Mathieu-Costello O., Guth B.D., Heusch G., Bloor C.M., Am. J. *Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **1987**, 253, 6, 1425-1434.

4. Zhumadina Sh.M., Bulekbaeva L. E. *Razvitie mekhanizmov regulatsii gemo- i limfodinamiki v filogeneze pozvonochnykh zhivotnykh*. Almaty, **2007**, 171 p (in Russ.).

5. Borodin Iu.I., Grigor'ev V.N. *Limfaticheskii uzel pri tsirkulatornykh narusheniakh*. Novosibirsk, **1986**, 238 p (in Russ.).

6. Tokunaga N., Yamazaki T., Akyama T., Sano S., Mori H. *Cardiovasc. pharmacol.*, **2003**, 42, 1, 7-10. 7. Bul'on V.V., Khnychenko L.K. *Fundamental'nye issledovaniia*, **2007**, 3, 74-78 (in Russ.).

8. Vlasova I.M., Saletskii A.M. *Al'manakh klinicheskoi meditsiny*, **2008**, 17-1, 45-48 (in Russ.).

9. Falck B., Hillarp N.A., Thieme G., Torp A. *J. Histochem. and Cytochem.*, **1962**, 10, 348-355.

10. Govyrin V.A. *Razvitiye nauchnogo nasledie akad. L.A. Orbeli. Nauka*, **1982**, 169-181 (in Russ.).

Резюме

Жанбас артериясына лигатура салынып, созылмалы ишемия түздөрүлдү, оны цитофлавинді қолдану арқылы түзету кезеңінде 14, 30, 90 тәуліктен кейін гистохимиялық әдістемені қолданып лимфа тамырлары мен түйіршігіндегі адренергиялық жүйке күрүлсіз зерттелді. Ишемияны 14 тәулік түзету кезеңінде кейбір жүйке талышыктары диффузия калпында болды. 30—90 күн ишемияны түзету кезеңінде жүйке талышыктары микрокаң тамырларының сакталуына байланысты болды.

Summary

The histochemical fluorescence method of visualizing the catecholamines was used to study the adrenergic innervation in lymph node after ligation of the femoral artery and correction of ischemia by tsitoflavin during different periods of time (14, 30, 90 days). After 14 days of ischemia correction the diffusion of terminal nerve fibers was observed. After 30 and 90 days of ischemia correction nerve fibers were preserved in the degree of preservation of microvessels.