DOI: 10.17117/na.2014.01.161

Поступило в редакцию: 27.11.2014

<http://ucom.ru/doc/na.2014.01.161.pdf>**Жумадина Ш.М.****Изменения лимфодинамики и состава лимфы и крови при ишемии-реперфузии мозга у низших позвоночных****Zhumadina Sh.M.****Changes of dynamics of lymph and of structure of lymph and blood in condition of ischemia-reperfusion of brain of the lowest vertebrates**

В острых опытах при кратковременной ишемии-реперфузии головного мозга у низших позвоночных животных выявлены гематологические и физико-химические сдвиги в крови и лимфе, усиление лимфотока, что носит компенсаторный характер. Предварительное введение животным гепарина оказало антигипоксический эффект

Ключевые слова: низшие позвоночные, ишемия-реперфузия мозга, лимфа, кровь, лимфодинамика

In the experiments in condition of ischemia – reperfusion of the brain of the lowest vertebrates are revealed haematological and physical – chemical shifts in blood and lymph, strengthening of lymph current, that has a compensator character. The preliminary injection of heparin to the animals had anti-hypoxia effect

Key words: lower vertebrates, ischemia-reperfusion brain lymph, blood, lymphodynamics

Жумадина Шолпан Молдажановна

доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой

Павлодарского государственного университета им. С. Торайгырова

г. Павлодар, ул. Ломова, 64

Zhumadina Sholpan Moldazhanovna

Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of Department

Pavlodar State University named S. Toraiyrov
Pavlodar, Lomov st., 64

Одним из тяжелых осложнений сердечно-сосудистых заболеваний считается нарушение мозгового кровообращения, которое сопровождается ишемией тканей мозга. Как ишемические, так и постишемические повреждения тканей прямо связаны с кислородным голоданием [1]. При ишемии тканей наблюдаются снижение синтеза оксида азота в эндотелии сосудов, ацидоз, который в последнее время трактуется как выраженный окислительный стресс [2, 3], а также повышение тромбогенных свойств крови [4]. Сведения о роли лимфатической системы в развитии ишемии-реперфузии органов и тканей в литературе малочисленны [5, 6, 7]. Особенно скудны сведения о развитии адаптивных реакций лимфатической системы при ишемии-реперфузии головного мозга у низших позвоночных. Хотя знания о становлении механизмов защиты при ишемии мозга в процессе эволюции позвоночных могут дать ключ к пониманию этих процессов у высокоорганизованных особей.

В настоящей статье приводится материал по изучению гематологических и физико-химических показателей крови и лимфы у лягушек и черепах при ишемии головного мозга.

Материалы и методы

В опытах были использованы представители низших позвоночных, обоего пола: 38 озерных лягушек (*Rana ridibunda*) массой тела 80 – 100 г в осеннем периоде и 42 степных черепах (*Testudo horsfieldi*) массой 700-1200 г. весной. Наркотизация животных осуществлялась путем дачи эфира или внутримышечной инъекции тиопентапа натрия (35-40 мг/кг). Ишемия-реперфузия головного мозга достигалась путем перевязки 4-х артерий, питающих головной мозг (обеих общих сонных и обеих позвоночных артерий) сроком на 30 мин, затем снимали окклюзию артерий и проводили реперфузию мозга в течение 120-180 мин. Регистрировали объем лимфы в бедренном подкожном лимфатическом мешке лягушки и в поясничной лимфатической цистерне черепах. До ишемии, в периоде ишемии и реперфузии мозга определяли количество эритроцитов в крови пробирочным методом разведения и подсчетом в камере Горяева, уровень гемоглобина – методом Дробкина (циангемоглобиновый), осмотическую резистентность эритроцитов – по степени гемолиза в гипотонических растворах NaCl (0,35-0,9 г/100мл) по методу Фридмана. Время свертывания крови и лимфы определяли по Сухареву, pH – на биологическом микроанализаторе ОР-210 фирмы «Раделкис» (Венгрия). С целью усиления тромболитических свойств лимфы и крови в опытах за 15 мин до окклюзии артерий вводили внутривенно животным раствор гепарина (2,0 ед/100 г). Всего проведено 98 физиологических наблюдений и 2500 гематологических и физико-химических определений.

Экспериментальный материал обработан статистически с использованием *t*-критерия Стьюдента на ЭВМ.

Результаты и их обсуждение.

Результаты опытов позволили обнаружить при ишемии мозга (в течение 30 мин) увеличение объема лимфы у лягушек в 2 раза, а у черепах – на 40% от исходного фона.

Как видно из таблицы 1, у лягушек и черепах при ишемии головного мозга наблюдалось увеличение количества эритроцитов и концентрации гемоглобина крови. Через 60 мин после реперфузии мозга у лягушек наблюдалась тенденция к восстановлению показателей количества эритроцитов и гемоглобина.

У лягушек время свертывания крови составило, в среднем, $13,8 \pm 1,7$ мин, лимфы – $20,5 \pm 1,57$ мин, у черепах время свертывания крови – $10,2 \pm 0,68$ мин, в лимфе – $15,2 \pm 1,26$ мин. Из этих данных видно, что скорость свертывания лимфы была замедленной по сравнению с кровью. При ишемии головного мозга время свертывания крови укорачивалось у лягушек, в среднем, на 31 %, лимфы – на 21% а у черепах на 37 и 22% соответственно от исходного фона. У лягушек через 90 мин от начала реперфузии мозга наблюдалось восстановление времени свертывания крови и лимфы до исходных значений, а у черепах даже через 2 часа от начала реперфузии мозга время свертывания крови оставалось

выше исходных значений (таблица 1). Определение осмотической резистентности эритроцитов с последующим вычислением гемолитического нарастания выявило границы нормальной стойкости эритроцитов крови лягушек и черепа по отношению к гипотоническим растворам хлористого натрия. В условиях ишемии головного мозга границы минимальной и максимальной устойчивости эритроцитов сдвигались влево (таблица 1), что свидетельствует о снижении осмотической устойчивости эритроцитов у низших позвоночных при ишемии мозга.

В следующей серии опытов изучали влияние циркуляторной гипоксии головного мозга на кислотно-щелочное равновесие крови и лимфы. Так, рН лимфы у лягушек составлял $8,07 \pm 0,05$, рН крови $7,72 \pm 0,04$, у черепах в лимфе рН – $7,91 \pm 0,04$, в крови – $7,56 \pm 0,04$. Как видно, лимфа имела более щелочную реакцию, чем кровь. Согласно данным литературы, у амфибий и рептилий значение рН крови может колебаться в широких пределах в зависимости от температуры окружающей среды, например, при ее колебаниях от 10 до 40 °C у лягушек рН крови изменялся от 8,1 до 7,55, а у черепах от 7,8 до 7,48 [8]. Мозговых артерий наблюдалось уменьшение рН лимфы до $7,90 \pm 0,05$, в крови – до $7,65 \pm 0,05$. У черепах при ишемии мозга наблюдался снижение рН лимфы до $7,70 \pm 0,05$, рН крови – до $7,40 \pm 0,03$. Из результатов опытов видно, что при ишемии-реперфузии головного мозга наблюдаются сдвиги рН крови и лимфы в кислую сторону. Предварительное введение раствора гепарина лягушкам и черепахам снижало негативный эффект ишемии мозга на рН и скорость свертывания крови и лимфы.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что через 30 мин от начала ишемии головного низших позвоночных животных наблюдалось наибольшее повышение числа эритроцитов и содержания гемоглобина, что является компенсаторной реакцией системы крови на гипоксию тканей. Подобный эффект со стороны системы крови наблюдали и другие исследователи при циркуляторной гипоксии органов и тканей у млекопитающих [9]. В наших опытах, как было указано выше, при окклюзии мозговых артерий у лягушек и черепах наблюдалось увеличение лимфотока, что способствует дополнительному притоку жидкости в кровеносное русло. При ишемии мозга рН крови и лимфы сдвигался в кислую сторону. Поскольку лягушки обладают высокой проницаемостью кожи, у них, вероятно, усиливается потеря CO₂ через кожу, что обусловило более слабое понижение у них рН крови и лимфы, чем у черепах. В периоде реперфузии головного мозга рН возвращался к исходному уровню через 1 час. Сдвиги рН в кислую сторону в наших опытах объясняются накоплением продуктов метаболизма в крови, лимфе и тканях при ишемии мозга. Считают, что при ишемии органов и тканей активируются процессы ПОЛ, образование свободных радикалов, накопление продуктов метаболизма, способствующие развитию ацидоза [10]. Усиление гемолиза эритроцитов у животных при ишемии мозга, наблюдавшееся в наших опытах, обусловлено явлениями ацидоза. В наших опытах обнаружено ускорение свертывания крови и лимфы у лягушек и черепах при острой гипоксии головного мозга (таблица 1).

Животные	Показатели	Исходный фон	Периоды эксперимента, мин			
Лягушки	Эритроциты, тыс./ 1 мм ³	420 ± 17,9	532 ± 23,7	554 ± 22,4 *	510 ± 21,7	455 ± 21,2
	Гемоглобин, %	6,4 ± 0,21	7,3 ± 0,39	7,8 ± 0,22 *	7,1 ± 0,19	6,2 ± 0,23
	Время свертывания крови, мин	13,8 ± 1,07	11,8 ± 0,91	9,5 ± 0,82 ***	10,3 ± 0,74	11,3 ± 0,81
	Осмотическая резистентность эритроцитов, %	min граница 0,20 ± 0,001 max граница 0,10 ± 0,005	min граница 0,30 ± 0,001 max граница 0,10 ± 0,009	min граница 0,30 ± 0,014 max граница 0,18 ± 0,009	min граница 0,25 ± 0,022 max граница 0,10 ± 0,014	min граница 0,20 ± 0,010 max граница 0,10 ± 0,007
Черепahi	Эритроциты, тыс./1 мм ³	544 ± 17,9	590 ± 23,6	653 ± 21,3 *	625 ± 27,3	518 ± 43,9
	Гемоглобин, %	7,3 ± 0,43	8,2 ± 0,44	8,4 ± 0,41	8,0 ± 0,43	8,0 ± 0,33
	Время свертывания крови, мин	10,2 ± 0,58	6,5 ± 0,47 ***	8,1 ± 0,51	8,8 ± 0,56	9,0 ± 0,56
	Осмотическая резистентность эритроцитов, %	min граница 0,30 ± 0,025 max граница 0,44 ± 0,038	min граница 0,22 ± 0,019 max граница 0,37 ± 0,025	min граница 0,30 ± 0,025 max граница 0,41 ± 0,035	min граница 0,30 ± 0,025 max граница 0,42 ± 0,036	min граница 0,33 ± 0,034 max граница 0,43 ± 0,044

Примечание: различия достоверны по сравнению с исходным фоном - * $p < 0,05$; *** $p < 0,02$

Примечание: различия достоверны по сравнению с исходным фоном - * $p < 0,05$; *** $p < 0,02$

Установлено, что при гипоксии тканей млекопитающих, особенно в постишемическом периоде, усиливаются тромбогенные свойства крови, резко повышается выделение сосудистой стенкой тромбопластической субстанции и активируется фибринолиз одновременно с интенсивным выделением в кровоток медиаторов симпато-адреналовой системы [3]. В наших опытах при ишемии мозга у низших позвоночных сокращалось время свертывания лимфы, связанное, на наш взгляд, с повышением активности фибриногена лимфы, поскольку в лимфе тромбоциты отсутствуют [11]. Использование раствора гепарина в наших опытах, который вводился животным до окклюзии артерий, оказало антигипоксический эффект, что было выражено в снижении повреждающего действия гипоксии на скорость свертывания и рН лимфы и крови у лягушек и черепах, в результате улучшения жидкостных и реологических свойств лимфы и плазмы крови.

Полученные нами данные показали, что у низших позвоночных животных в ответ на ишемию головного мозга возникают адаптивные реакции системы крови, в том числе и лимфатической, аналогичные реакциям млекопитающих на гипоксию тканей и имеющие компенсаторный характер [7].

Список литературы:

1. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Функциональное состояние эндотелия при ишемии – реперфузии // *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*, 2000. Т.80, № 2. С. 148-161.
2. Jin J.S., Webb R.C., D'Alessy Z.I. Inhibition of vascular nitric oxide-cGMP pathway by plasma from ischemic hind limb of rats. *Amer. J. Physiology*. 269, (1.) Pt. 2. H 254- H261. 1995.
3. Inauen W., Payne D.K., Kvietys P. R., Granger D.N. Hypoxia reoxygenation increases the permeability of endothelial cell monolayers: role of oxygen radicals // *Free Radic. Biol.*
4. Власов Т.Д., Вивуланец Е.В., Мендукшев И.В., Петрищев Н.Н., Тверева Е.К. Функциональная активность тромбоцитов при ишемии/реперфузии мозга крыс // *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*, 2000. Т. 86. № 4. С.422-426
5. Аубакирова Х.Ж., Бекетаев А.М. Влияние циркуляторного типа кислородного голодания на лимфоток // *Тр. Инст. физиол. АН КазССР, Алма-Ата*. 1968. Т.8. С. 6-16.
6. Жумадина Ш.Г., Булекбаева Л.Э. Сравнительно-физиологическое исследование лимфо- и гемодинамики при циркуляторной гипоксии головного мозга у низших позвоночных // *Вестн. КазНУ*. 2001. № 3 (21). С.57-62.
7. Булекбаева Л.Э., Демченко Г.А., Вовк Е.И. Лимфодинамика при ишемии- реперфузии тонкого кишечника у собак. // *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*, 2005. № 1(91). С. 1441-1444.
8. Saunders D.K., Roberts A.C., Utsch G.R. Blood viscosity and hematological changes during prolonged submergence in nomadic water of northern-south musk turtles (*Stemotherus odoratus*) // *J. Exp. Zool.*, 2000. V. 287. № 7. P. 459-466.
9. Schultz J.E., Stoller D.A., Stadenau E.K. Investigation of regulatory volume increase in sea turtle erythrocytes // *Tes. Ann. Meet. of the Illinois, Acad. of Science, Macomb Ill* 2001, P. 20-21.
10. 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*. Новосибирск, 2004. С. 230- 233.
11. Русняк И., Фельди М., Сабо Д. Физиология и патология лимфообращения. Будапешт, 1957. 856 с.