

на правах рукописи

ПОДОСЁНКОВА ТАТЬЯНА ВАЛЕРЬЕВНА

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БРЫЖЕЕЧНЫХ
ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ
ИММУНОДЕФИЦИТЕ И ПЕРИТОНИТЕ**

14.00.02 анатомия человека

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва - 2006

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Ивановская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научный руководитель
доктор медицинских наук, профессор

Катаев Станислав Иванович

Официальные оппоненты:

член-корреспондент Российской Академии медицинских наук,
доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук, профессор

Баженов Дмитрий Васильевич
Шевченко Вадим Павлович

Ведущая организация.
Российская медицинская академия последипломного образования

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2006 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 212 203 10 при Российском университете дружбы народов по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.8

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Российского университета дружбы народов

Автореферат разослан « ____ » _____ 200__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук,
профессор

Н.В Ермакова

2006-4
28670

2255512

Актуальность научного исследования.

По данным отечественных (Семёнова И.Б., Семёнов Б.Ф., 1997) и зарубежных исследований (Nicander L., Nafstad P., Landsverk T., Engebretsen R.H., 1991) в настоящее время до 30% больных, страдающих разными заболеваниями, нуждаются в назначении иммуномодулирующей терапии. Синдром вторичной иммунной недостаточности значительно осложняет течение многих заболеваний. Нарушение нормального функционирования иммунной системы не только определяет более тяжелое, затяжное течение болезней, но и способствует генерализации воспалительных процессов снижением или отсутствию клинического эффекта от базисной терапии, увеличению летальности

Синдром вторичной иммунной недостаточности наблюдается и при перитоните. Летальность при этой патологии, к сожалению, весьма высока и по данным некоторых авторов превышает 60% (Байчоров Э.Х. с соавт., 2001).

Снижение эффективности традиционной терапии выдвинуло на первый план необходимость разработки способов иммунокоррекции, принципов и методов её проведения при иммунной недостаточности (Петров Р.В., Хаитов Р.М., 1999). Включение иммуномодулирующих препаратов в комплексную терапию заболеваний, протекающих с признаками вторичной иммунной недостаточности, позволило добиться высокого клинического эффекта (Сепиашвили Р.И., Славянская Т.А., 1999).

Активное влияние на реологические свойства лимфы, создание достаточной терапевтической концентрации лекарственных средств в очаге воспаления и региональных лимфатических узлах (ЛУ) является перспективным направлением современной терапии острых воспалительных заболеваний (Буянов В.М., Алексеев А.А., 1990; Ярема И.В., Ковпачков С.В., Шишло В.К., 1993; Дейл М.М., Формен Дж.К., 1998; Евдокимов В.В., Ярема В.И. с соавт., 2003). Эндолимфатическое введение иммуномодуляторов является мало изученным, особенно, с точки зрения воздействия его на морфологию ткани ЛУ. Следует учесть и тот факт, что современные эндолимфатические методы подразумевают прямое воздействие лекарственных препаратов на ткань ЛУ.

Поэтому в настоящее время актуальной проблемой является поиск комплекса адекватных и в то же время простых методов оценки морфофункционального состояния ЛУ при иммунодефицитных состояниях, перитоните и при эндолимфатическом введении иммуномодуляторов.

Цель и задачи исследования.

Целью данной работы явилось изучение морфологии брыжеечных лимфатических узлов крыс при экспериментальном иммунодефиците и перитоните на фоне эндолимфатического введения полиоксидония и цефпирамида.



В соответствии с целью были поставлены следующие задачи исследования:

1. Выявить структурно-функциональные изменения брыжеечных лимфатических узлов при экспериментальном иммунодефицитном состоянии, вызванном введением преднизолонa.
2. Исследовать морфофункциональные преобразования брыжеечных лимфатических узлов при эндолимфатической иммуностимуляции полиоксидонием на фоне иммунодефицита.
3. Выявить структурно-функциональные изменения брыжеечных лимфатических узлов при экспериментальном перитоните.
4. Исследовать при экспериментальном перитоните влияние полиоксидония и цефпирамида при их эндолимфатическом введении на морфофункциональное состояние брыжеечных лимфатических узлов.
5. Определить морфологические критерии для оценки действия указанных лекарственных препаратов на брыжеечные лимфатические узлы при эндолимфатическом способе их введении.

Научная новизна исследования.

1. Впервые изучено прямое иммуномодулирующее влияние полиоксидония при его эндолимфатическом введении на ткань брыжеечных лимфатических узлов крыс на фоне иммунодефицита.
2. Впервые с помощью морфологических и морфометрических исследований выявлены структурно-функциональные преобразования брыжеечных лимфатических узлов и элементов микроциркуляторного русла при эндолимфатическом введении полиоксидония и цефпирамида.
3. Впервые выявлено иммуностимулирующее влияние полиоксидония, введённого эндолимфатическим способом при перитоните.
4. Впервые определены морфологические критерии для оценки воздействия полиоксидония и цефпирамида при эндолимфатическом способе их введения.

Практическая ценность работы.

Модель иммунодефицитного состояния в комплексе с эндолимфатическим введением полиоксидония как иммуномодулятора создаёт предпосылки для проведения новых исследований в области изучения морфологии ткани ЛУ при иммунодефицитах иного генеза.

Выявленный комплекс морфологических критериев позволяет достаточно быстро оценить некоторые иммунологические функции лимфатических узлов без применения дорогостоящих методов.

Положительные результаты по применению полиоксидония при его эндолимфатическом введении позволяют утверждать об эффективности этого способа в целях коррекции вторичных иммунодефицитов в условиях клиники.

Метод эндолимфатического введения цефпирамида можно рекомендовать для рассмотрения к применению в клинике для лечения воспалительных заболеваний.

Представленные в работе сведения по структуре и функции брыжеечных ЛУ в условиях иммунодефицита и при перитоните, влияние на течение этих процессов полиоксидония и цефпирамида, вводимых эндолимфатически, могут быть использованы в учебном процессе при преподавании соответствующих разделов анатомии, патофизиологии, иммунологии, фармакологии.

Положения, выносимые на защиту.

1. Экспериментальный иммунодефицит, вызванный введением преднизолона, приводит к изменению иммунологической функции брыжеечных лимфатических узлов.
2. Эндолимфатическое введение полиоксидония на фоне экспериментального иммунодефицита приводит к изменению показателей пролиферативной и миграционной активности брыжеечных лимфатических узлов.
3. Экспериментальный перитонит приводит к морфофункциональным изменениям элементов гемомикроциркуляторного русла и синусов брыжеечных лимфатических узлов.
4. Эндолимфатическое введение полиоксидония и цефпирамида на фоне экспериментального перитонита оказывает влияние на структурные образования брыжеечных лимфатических узлов и их иммунокомпетентность.
5. Между оценочными параметрами функциональной активности брыжеечных лимфатических узлов при иммунодефиците и перитоните имеется определённая взаимосвязь, изменяющаяся на фоне эндолимфатического введения полиоксидония и цефпирамида.

Апробация работы.

Основные положения диссертации доложены на 7 Российском Национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2000); конгрессе лимфологов России (Москва, 2000); I Съезде Лимфологов России (Москва, 2001); всероссийской научной конференции «Молодые женщины в науке» (Иваново, 2004); международной научной конференции «Проблемы лимфологии и интерстициального массопереноса» (Новосибирск, 2004); межкафедральной конференции ГОУ ВПО ИвГМА Минздрава России (2005). По материалам исследования опубликовано 10 работ.

Объем и структура диссертации.

Диссертация изложена на 140 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, характеристики экспериментального материала и методов исследования, результатов исследования, их обсуждения и выводов. Список использованной литературы состоит из 178 источников, из

них 110 отечественных и 68 иностранных. Работа иллюстрирована 45 рисунками и 15 таблицами.

Материал и методы исследования.

Материалом для исследования явились 78 половозрелых нелинейных крыс (самцов), массой 180–200 грамм. Животные были разбиты на пять групп. Первая группа (6 интактных крыс) - группа сравнения (ГС). Вторая группа (18 крыс) – животные с воспроизведением модели иммунодефицита посредством введения преднизолона (Машковский М.Д., 2000) в дозе 4мг/кг (I серия). Сроки забора материала через 7, 15, 30 суток после введения преднизолона. Третья группа (18 крыс) – животные, которым эндолимфатически вводили полиоксидоний на фоне иммунодефицита, обусловленного введением преднизолона (II серия). Сроки забора материала через 7, 15, 30 суток после введения преднизолона. Полиоксидоний вводился пятикратно в дозе 0,15 мг/кг в объеме 1 мл через сутки после введения преднизолона (Некрасов А.В., Пучкова Н.Г., 2002). Четвёртая группа (18 крыс) – животные с созданием модели перитонита по методике А.М.Карсекина в модификации Н.А.Петровой (III серия). Сроки забора материала через 1, 2, 3 сутки после операции. Пятая группа (18 крыс) – животные, которым эндолимфатически вводились полиоксидоний и цефпирамид на фоне перитонита (IV серия). Антибиотик вводился в дозе 15 мг/кг в объеме 1 мл, один раз в сутки (Машковский М.Д., 2000). Через 2 часа через тот же катетер вводили полиоксидоний в дозе 0,15 мг/кг в объеме 1 мл. Эндолимфатическую терапию начинали спустя 12 часов после операции. Сроки забора материала через 1, 2, 3 сутки после операции.

В работе был использован комплекс адекватных морфофункциональных методов исследования.

1. Световая микроскопия. Для исследования забирали брыжеечные ЛУ. Биологический материал фиксировали в 10% растворе формалина (для приготовления парафиновых срезов толщиной 5-7 мкм), которые окрашивались гематоксилин-эозином и азур-эозином.

2. Электронная микроскопия. Для морфологических исследований использовали 3 метода сканирующей электронной микроскопии: коррозионных, нативных и импрегнированных препаратов.

Для получения коррозионных препаратов гемомикроциркуляторного русла ЛУ, после перфузии сосудистого русла гепаринизированной средой 199, инъецировали предполимеризованный метилметакрилат с добавлением 2% перекиси бензоила и 2% диметиланилина. После затвердения смолы, ЛУ иссекали и подвергали мацерации в 30% растворе NaOH при температуре 60°C. Затем препарат отмывали, высушивали на воздухе и напыляли серебром

Для приготовления нативных препаратов биологический материал фиксировался при перфузии 2,5% раствором глутаральдегида на среде 199, обрабатывался 1% раствором осмиевой кислоты и обезвоживался в батарее спиртов. Затем образцы замораживали в жидком азоте и раскалывали. После оттаивания в 96% этаноле процесс обезвоживания продолжался, препараты

высушивали путем перехода через критическую точку в CO₂ и напыляли золотом.

Для приготовления импрегнированных препаратов ЛУ фиксировались по предыдущей методике, отмывались в течение 1 мин 5% раствором глюкозы. Затем они последовательно перфузировались 0,15% раствором AgNO₃, 5% раствором глюкозы, 3% CoBr и 1% NHBr, после чего высушивались и напылялись золотом по описанной выше методике. Изучение коррозионных, нативных и импрегнированных препаратов проводили с использованием сканирующих электронных микроскопов Phillips PSEM-500x, Hitachi S-405A со съемкой на коммерческую широко- и узкоформатную пленку.

3. Метод криофрактографии. В качестве консерванта был использован 2,5% раствор глутарового альдегида, из которого препарат помещали в криопротектант (25% раствор глицерина). После этого образец погружался во фреон-22, охлаждаемый жидким азотом и находившийся при нормальном атмосферном давлении на грани плавления-замерзания (температура – 160⁰С). Затем проводилось скалывание. Сколотые поверхности напыляли последовательно платиной и углем. Отделение реплики от тканевого материала производилось путем растворения последнего в растворителе (25%-й раствор хромпика). После этого осуществлялось изучение полученных реплик с использованием сканирующего электронного микроскопа.

4. Метод морфометрии. Вычисление объемной плотности лимфоидных элементов ЛУ и объемной плотности кавеол эндотелия лимфатических синусов проводили по методу Г.Г. Автандилова (1972, 1973).

Вычисление индекса митотической активности (И мит.). На одном срезе учитывали от 3 до 6 герминтативных центров, в которых подсчитывали количество лимфоидных клеток с фигурами митозов. Отношение количества митозов к количеству исследованных вторичных фолликулов представляет собой индекс митотической активности данного узла (Антропова Ю.Г., 1991).
Формула для вычисления И мит.:

$$\text{И мит.} = N \text{ митозов} : N \text{ вторичных фолликулов}$$

Вычисление индекса миграционной активности (И мигр.) заключается в вычислении отношения суммарного количества лимфоцитов, находящихся в просвете посткапиллярных венул (ПКВ) и лимфоцитов, адгезированных к стенке ПКВ к количеству исследованных ПКВ на данном срезе. Формула для вычисления Имигр.:

$$\text{И мигр.} = (N \text{ своб.лимф.} + N \text{ адгезир.лимф.}) : N \text{ ПКВ}$$

Плотность ГМЦР и лимфатических синусов ЛУ определяли проецируя негативы на стандартную квадратно-узловую сетку и обводя контуры кровеносных микрососудов и лимфатических синусов разных зон ЛУ.

5. Лабораторные исследования крови. Общее количество лейкоцитов в периферической крови определялось по стандартной методике с использованием камеры Горяева. Для вычисления относительного количества лимфоцитов готовился мазок крови с докраской по

Романовскому-Гимза. В мазке вычислялось процентное содержание лимфоцитов (Нлф%) по отношению к количеству лейкоцитов, далее вычислялось абсолютное количество лимфоцитов.

Экспресс метод для определения степени активации иммунной системы является модификацией метода Хаммера (Hammer Z., 1981 Индекс активации высчитывался по формуле:

$$\text{И. акт.} = (\text{Лб} + \text{Ла} : 5) : \text{Лм}$$

Лб - количество лимфобластов, Ла - количество активированных к бласттрансформации лимфоцитов, Лм - количество малых лимфоцитов.

При активации иммунной системы в крови появляются бластные и активированные формы лимфоцитов, которые влияют на показатели индекса активации иммунной системы. Следовательно, по изменению индекса активации в эксперименте, по сравнению с контролем, констатируется факт стимуляции или депрессии иммунной системы.

6. Статистическая обработка результатов. Обработка полученных цифровых данных выполнена по программе на микро-ЭВМ «Электроника МК-61» и при помощи пакетов прикладных программ «Microsoft Excel 7.0». Для каждого показателя вычисляли среднюю арифметическую и ее ошибку; достоверность отличий оценивали по t-критерию Стьюдента. При помощи корреляционного анализа определяли характер и степень связи между показателями, отражающими морфофункциональное состояние ЛУ. В работе использован коэффициент корреляции рангов Спирмена (Лакин Г.Ф., 1990).

Результаты исследования.

Воздействие преднизолоном на организм животных вызывает значительное уменьшение количества лейкоцитов в целом, и в большей степени это касается иммунокомпетентных клеток-лимфоцитов. Их количество на третьи сутки эксперимента достигает 35% от общего количества лейкоцитов, а в группе сравнения-73%. Общее количество лейкоцитов к 30-ым суткам возрастает, хотя еще достоверно ниже результатов группы сравнения на 12%.

Абсолютное количество лимфоцитов крови на седьмые сутки эксперимента на 66% ниже результатов контрольной группы. На 15-е сутки происходит ещё большее уменьшение абсолютного количества лимфоцитов. К концу эксперимента этот показатель возрастает, но остаётся ниже результатов группы сравнения на 54%.

Применение эндолимфатической иммуностимуляции полиоксидонием на фоне воздействия преднизолоном дает эффект увеличения темпа восстановительных процессов, причем в данном случае это касается не столько общего количества лейкоцитов, сколько относительного и абсолютного количества лимфоцитов, которое уже к 30 суткам отличается от результатов группы сравнения не более чем на 14%. Общее количество лейкоцитов в этот срок несколько выше контрольных величин.

При воздействии преднизолоном наблюдается кратковременное снижение значений индекса активации, но к 30-ым суткам его показатели превышают контрольные на 86%.

Воздействие полиоксидонием приводит на седьмые сутки к повышению индекса активации на 108%. На 15-е и 30-е сутки происходит снижение И.акт до контрольных величин (табл.1).

Таблица 1.

Показатели лейкоцитарного и лимфоцитарного состава периферической крови крыс при создании модели иммунодефицита.

Экспериментальные серии	Время забора материала	Лейкоциты общ Lx10 ⁹ /л	Лимфоциты (относ) %	Лимфоциты абс. пх10 ⁹ /л	И.акт
ГС		6,54 ± 0,32	73,75 ± 3,61	4,82 ± 0,26	0,123 ± 0,005
I	7 сутки	4,74 ± 0,19*	35,44 ± 1,52*	1,68 ± 0,08*	0,112 ± 0,004*
	15 сутки	4,64 ± 0,18*	32,75 ± 1,63*	1,52 ± 0,07*	0,135 ± 0,004*
	30 сутки	5,76 ± 0,21*	38,36 ± 1,07*	2,21 ± 0,11*	0,230 ± 0,008*
II	7 сутки	5,13 ± 0,15*	34,89 ± 1,21*	2,79 ± 0,58*	0,256 ± 0,009*
	15 сутки	5,76 ± 0,26*	60,06 ± 3,07*	3,46 ± 0,38*	0,175 ± 0,006*
	30 сутки	6,59 ± 0,12	56,14 ± 2,38*	3,70 ± 0,16*	0,133 ± 0,005

Примечание: ГС – группа сравнения, I серия – животные с моделью иммунодефицита, II серия – животные с моделью иммунодефицита и последующим введением полиоксидония, * - различия с группой сравнения статистически достоверны (p<0,005).

Морфометрический анализ выявил обеднение лимфоидными элементами брыжеечных ЛУ. Результаты исследования показали, что на 7-е сутки после моделирования иммунодепрессии отмечалось снижение показателей в отношении всех лимфоидных элементов ЛУ почти в два раза по сравнению с контрольными величинами. Но наибольшим изменениям подвергаются плазматические клетки в мозговых телях. Их количество на 7-е сутки уменьшается на 80% по сравнению с числом в группе сравнения, что свидетельствует о снижении гуморальной формы иммунного ответа. К концу эксперимента объемная плотность плазматических становится на 48% ниже контрольных величин (табл.2).

Объемная плотность лимфобластов В-зависимой зоны к 30-суткам возрастает на 35% по сравнению с данными группы сравнения.

Динамика восстановления количественных показателей, характеризующих лимфоидные элементы ЛУ, во времени положительная, но полного восстановления их, за исключением лимфобластов Т-зависимой зоны к 30-ым суткам нет.

Эндолимфатическое введение полиоксидония показало повышение количества лимфоцитов и лимфобластов кортекса и в конце эксперимента эти показатели на 5% и 17% соответственно больше результатов в группе

сравнения Объемная плотность плазмоцитов в мозговых тяжах на 7-е сутки была на 60% больше по сравнению с данными животных I серии и на 4% ниже по отношению животных ГС (табл.3).

Таблица 2.

Объемная плотность лимфоидных элементов различных зон брыжеечных лимфатических узлов при иммунодефиците.

Зоны ЛУ	Клеточные элементы	ГС	Vv		
			I		
			7 сут.	15 сут.	30 сут.
Кортекс с лимфатическими фолликулами	Лф	63,66±3,31	32,42 ±1,21*	33,13±1,34*	42,35±2,35*
	Лб	20,21±1,02	13,09 ±0,59*	14,27±0,56*	27,45±1,12*
Т-зависимая зона	Лф	71,62±2,83	41,11 ± 2,18*	46,25±2,59*	55,33±2,74*
	Пл	15,76±0,76	7,23 ± 0,34*	11,00±0,53*	13,77±0,52*
	Лб	12,44±0,51	9,10 ± 0,57*	13,12±0,42	12,13±0,63
Мозговые тяжи	Лф	31,07±1,03	15,21 ± 0,78*	18,19±0,86*	22,72±1,19*
	Пл	30,19±1,23	6,18 ± 0,39*	8,72 ±0,47*	15,83±0,71*

Примечание Vv - объемная плотность лимфоидных элементов, ГС - группа сравнения, I серия - животные с моделью иммунодепрессии, * - статистически значимые различия ($p<0,005$) с группой сравнения. Лф-лимфоциты, Лб-лимфоциты, Пл-плазмоциты

Таблица 3.

Объемная плотность лимфоидных элементов различных зон брыжеечных лимфатических узлов при иммунодефиците с эндолимфатическим введением полиоксидония.

Зоны ЛУ	Клеточные элементы	ГС	Vv		
			II		
			7 сут.	15 сут.	30 сут.
Кортекс с лимфатическими фолликулами	Лф	63,66 ± 3,31	32,50±1,42*	41,82±2,21*	67,32±3,43
	Лб	20,21 ± 1,02	17,01±0,83*	25,31±1,21*	32,69±1,37*
Т- зависимой зоны	Лф	71,62 ± 2,83	36,05±1,28*	45,24±2,41*	69,25±3,25
	Пл	15,76 ± 0,76	6,46 ± 0,35*	11,23±0,54*	15,43 ± 0,77
	Лб	12,44 ± 0,51	7,33 ± 0,46*	16,98±0,86*	14,92 ± 0,62
Мозговые тяжи	Лф	31,07 ± 1,03	21,13±1,11*	26,43±1,17*	36,43±1,67*
	Пл	30,19 ± 1,23	15,25±0,76*	27,67±1,18	31,53±1,38

Примечание Vv - объемная плотность лимфоидных элементов; ГС - группа сравнения; II серия - животные с моделью иммунодепрессии и последующим введением полиоксидония, * - статистически значимые различия ($p<0,005$) с группой сравнения Лф-лимфоциты, Лб-лимфоциты, Пл-плазмоциты

Объемная плотность лимфоцитов и плазмоцитов Т-зависимой зоны возвращается к контрольным величинам. Это соответствует литературным данным, т.к. полиоксидоний в условиях *in vivo* обладает выраженной способностью стимулировать гуморальный иммунный ответ, в эксперименте он

усиливает антителообразование в 5-10 раз (Р.В.Петров, Р.М.Хайтов, А.В. Некрасов, 2000).

Количество пролиферативно-активных клеток брыжеечных лимфатических узлов на 7-е сутки после введения преднизолона было снижено почти в 2 раза. К 30-ым суткам этот показатель повышается, но не достигает результатов ГС, оставаясь на 37% ниже. После эндолимфатического введения полиоксидония индекс митоза возрастал и на 30-е сутки был на 25% больше, чем у животных I серии.

На 7-е сутки индекс миграции у животных I серии был на 69% ниже показателей группы сравнения. При эндолимфатической иммуностимуляции полиоксидонием этот показатель был на 12 % ниже результатов группы сравнения (табл.4).

Таблица 4.

Миграционная и митотическая активность клеток брыжеечных ЛУ при иммунодефиците.

Экспериментальные серии	Время забора материала	И. мит.	И. мигр
ГС		14,26 ± 0,71	2,46 ± 0,11
I	7 сутки	7,41 ± 0,36*	0,76 ± 0,03*
	15 сутки	8,12 ± 0,41*	0,99 ± 0,04*
	30 сутки	8,99 ± 0,48*	1,25 ± 0,06*
II	7 сутки	10,33 ± 0,53*	1,42 ± 0,07*
	15 сутки	11,23 ± 0,61*	2,09 ± 0,09*
	30 сутки	12,13 ± 0,68*	2,23 ± 0,12

Примечание. ГС – группа сравнения, I серия – животные с моделью иммунодефицита, II серия – животные с моделью иммунодефицита и последующим введением полиоксидония; * - различия с группой сравнения статистически достоверны ($p < 0,005$).

У животных I серии экспериментов выявлено шесть статистически достоверных корреляций между исследуемыми параметрами (рис.1). При иммунодефиците наблюдалось угнетение иммунологических функций ЛУ, сопровождающееся снижением интенсивности иммуноцитопозитивской функции, в крови это проявлялось в уменьшении количества активированных и бластных форм. Индекс активации характеризует иммунную систему как самокорректирующуюся, самонастраивающуюся. Его повышение в крови совпадает с увеличением объемной плотности лимфоцитов в ЛУ. И, наоборот, снижение указанных показателей в ЛУ и в крови, особенно снижение индекса активации, позволяет судить об угнетении иммунной системы.

У животных II серии сохраняется положительная корреляционная связь между И. акт. и Лф ЛУ. И более того возникают ряды взаимосвязанных параметров. Так появилась группа “Лф кр.- И. мит. – L”, в которой показатели изменяются параллельно (положительная корреляционная связь).

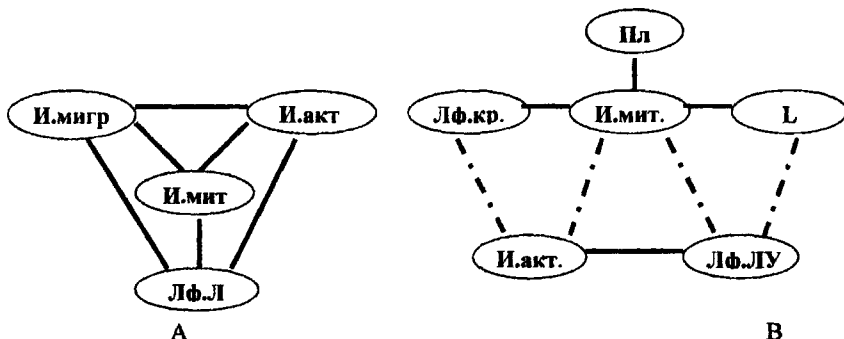


Рис. 1. Схема корреляционных связей между параметрами, характеризующими морфофункциональное состояние брыжеечных ЛУ у крыс с моделью иммунодефицита (А) и эндолимфатическим введением полиоксидония на фоне иммунодефицита (В).

Примечание: - - - отрицательная корреляционная связь,
 ————— положительная корреляционная связь

И акт – индекс активации, И. мит – индекс митоза, И. мигр – индекс миграции Лф. ЛУ – лимфоциты лимфатического узла, L – общее количество лейкоцитов крови, Лф кр – лимфоциты крови, Пл - плазмocyты.

Это говорит о том, что при повышении митотической активности увеличивается количество лейкоцитов и абсолютное число лимфоцитов крови. Кроме этого отмечена положительная корреляционная связь между И. мит. и Пл, И.акт. и Лф ЛУ имеют отрицательные корреляционные связи со всеми показателями предыдущей группы.

На 1-е сутки существенных изменений относительной плотности синусов не происходило. На 2-е сутки развития перитонита происходит статистически достоверное повышение относительной плотности синусов брыжеечных ЛУ (табл.5). Это обусловлено главным образом расширением маргинального синуса, тогда как внутриорганные синусы сдавлены отечной жидкостью. На 3-и сутки эксперимента относительная плотность маргинального синуса в 2,7 раза превышала контрольные величины, в отношении промежуточных и воротного синусов была соответственно в 1,3 и 1,1 раза меньше по сравнению с ГС что, по-видимому, обусловлено отеком паренхимы ЛУ и сдавливанием путей внутриорганной циркуляции лимфы.

К концу первых суток после эндолимфатической терапии относительная плотность маргинального и воротного синусов превышает контрольные величины, в то же время относительная плотность промежуточного синуса была несколько ниже результатов группы сравнения. В последующие дни проведения эксперимента относительная плотность синусов у IV группы животных приближалась к результатам группы сравнения.

Таблица 5.

Относительная плотность синусов брыжеечных ЛУ при перитоните и последующем введении полиоксидония и цефпирамида.

Экспериментальные серии	Время забора материала	Относительная плотность лимфомикроциркуляторного русла разных зон ЛУ, в %		
		Маргинальный синус	Промежуточный синус	Воротный синус
ГС		3,3±0,11	5,1 ±0,25	4,0±0,22
III	1 сутки	3,8±0,27*	3,3 ±0,23*	3,9±0,35*
	2 сутки	19,4±1,41*	4,6±0,57*	3,7±0,48*
	3 сутки	9,2±0,79*	3,8±0,44*	3,6 ±0,44*
IV	1 сутки	4,3±0,22*	4,8±0,21*	4,5±0,19*
	2 сутки	3,8±0,18*	4,9±0,17*	4,3±0,22*
	3 сутки	3,4±0,14*	5,2±0,23*	4,2±0,18*

Примечание. ГС – группа сравнения, III серия – животные с моделью перитонита, IV серия – животные с моделью перитонита и последующим введением полиоксидония и цефпирамида; * - статистически значимые различия ($p < 0,005$) с группой сравнения

Таблица 6.

Относительная плотность ГМЦР брыжеечных ЛУ при перитоните.

Экспериментальные серии	Время забора материала	Относительная плотность ГМЦР разных зон лимфоузла, в %	
		Корковое вещество	Мозговое вещество
ГС		8,4±1,15	5,8±0,54
III	1 сутки	23,7±2,65*	18,5±1,23*
	2 сутки	19,5±2,36*	17,3±0,87*
	3 сутки	9,7±0,63*	7,6±0,38*
IV	1 сутки	17,6±2,45*	12,5±1,34*
	2 сутки	14,7±1,63*	9,8±0,98*
	3 сутки	9,1±1,13*	6,1±0,67*

Примечание: ГС – группа сравнения, III серия – животные с моделью воспалительной реакции в брюшной полости, IV серия – животные с моделью воспалительной реакции в брюшной полости и последующим введением полиоксидония и цефпирамида; * - статистически значимые различия ($p < 0,005$) с группой сравнения.

Через 24 часа от начала перитонита в брыжеечных ЛУ отмечалась гипергидратация паренхимы органа, дилатация кровеносных сосудов. Относительная плотность ГМЦР коры превышала в 4 раза контрольные величины, а ГМЦР мозгового вещества в 3 раза (табл.6).

В последующие 2-е и 3-и сутки эксперимента показатель относительной плотности ГМЦР коры и мозгового вещества несколько снижался, но все еще статистически достоверно превышал показатель ГС.

Эндолимфатическое введение полиоксидония и цефпирамида приводило к постепенному снижению относительной плотности ГМЦР коры и мозгового вещества и по истечению 3-их суток эти показатели лишь на 8% и 5% соответственно превышали результаты в ГС (табл.6).

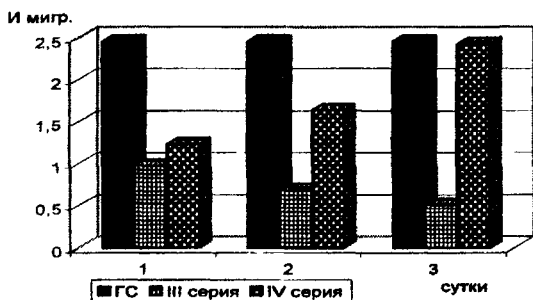


Рис.2. Индекс миграции брыжеечных ЛУ при перитоните.

Примечание По оси абсцисс – время забора материала; по оси ординат – количество пролиферативно-активных клеток (И мигр.), ГС-группа сравнения, III серия - животные с моделью перитонита, IV серия – животные с моделью перитонита и последующим введением полиоксидония; * - различия с группой сравнения статистически достоверны ($p < 0,005$).

На 1-ые сутки после эндолимфатического введения полиоксидония миграционная активность была на 25% больше, чем у животных III серии (рис.2). На 2-ые и 3-и сутки индекс митоза у животных III серии резко снижался и был на 71% и 85% соответственно ниже результатов группы сравнения.

На 3-и сутки после эндолимфатической иммунотерапии число пролиферативно-активных клеток брыжеечных лимфатических узлов на 4% превосходило показатели в группе сравнения, и на 87% было больше по сравнению с животными III серии (рис.3).

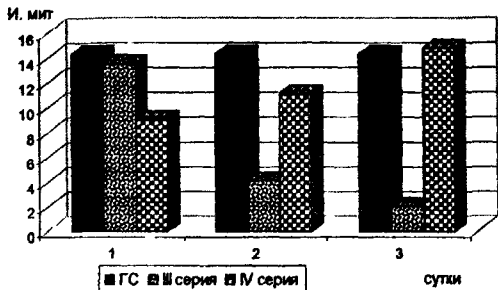


Рис.3. Индекс митоза брыжеечных ЛУ при перитоните

Примечание: По оси абсцисс – время забора материала; по оси ординат – количество пролиферативно-активных клеток (И. мит), ГС-группа сравнения, III серия - животные с моделью перитонита, IV серия – животные с моделью перитонита и последующим введением полиоксидония; * - различия с группой сравнения статистически достоверны ($p < 0,005$)

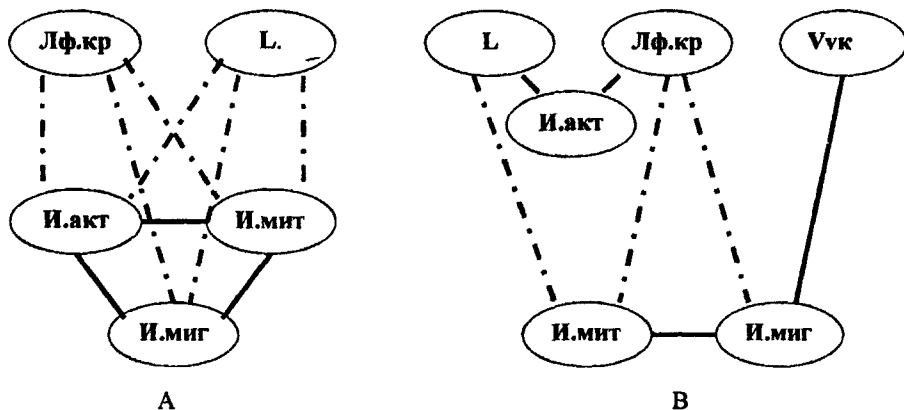


Рис.4. Схема корреляционных связей между параметрами, характеризующими морфофункциональное состояние брыжеечных ЛУ у крыс с моделью перитонита (А) и эндолимфатическим введением полиоксидония и цефпирамида на фоне перитонита (В).

Примечание: - · - · - отрицательная корреляционная связь,
 ————— положительная корреляционная связь

Иакт – индекс активации, И мит – индекс митоза, И мигр – индекс миграции, L – общее количество лейкоцитов крови, Лф кр – лимфоциты крови, Vвк – объемная плотность кавеол эндотелия лимфатических синусов.

У животных III серии экспериментов возникают положительные корреляционные связи между И мит. и И. акт., а также между И мигр. и И. акт., т.е. снижение этих показателей идёт параллельно, что свидетельствует об угнетении иммунологической функции брыжеечных ЛУ. У животных с эндолимфатическим введением полиоксидония и цефпирамида на фоне перитонита параллельно изменяются И мит., И мигр. и Vvk. Положительная корреляция установлена между показателями И. акт., L и Лф кр., отрицательная корреляция между показателями И. мит., L и Лф кр., а также И. мигр., L и Лф кр., свидетельствующая о снижении воспалительного процесса и восстановлении функций брыжеечных ЛУ (рис. 4).

Выводы.

1. Иммунодефицитное состояние, вызванное введением преднизолона, приводит к угнетению иммунологической функции брыжеечных лимфатических узлов, проявляющееся в снижении количественного соотношения лимфоидных элементов, их пролиферативной и миграционной активности.
2. Эндолимфатическое введение полиоксидония на фоне иммунодефицитного состояния способствует повышению показателей объемной плотности лимфоидных элементов брыжеечных лимфатических узлов, митотической и миграционной активности иммунокомпетентных клеток.
3. Перитонит приводит к угнетению иммунологической активности брыжеечных лимфатических узлов, к увеличению объемной плотности гемомикроциркуляторного русла и лимфатических синусов, к снижению интенсивности трансэндотелиального массопереноса в эндотелиоцитах лимфатических синусов.
4. Эндолимфатическое введение полиоксидония и цефпирамида на фоне перитонита приводит к повышению показателей пролиферативной и миграционной активности иммунокомпетентных клеток, увеличению интенсивности трансэндотелиального массопереноса в эндотелиоцитах лимфатических синусов.
5. Корреляционные взаимосвязи изменений оценочных параметров функциональной активности брыжеечных лимфатических узлов при перитоните и иммунодефиците динамичны. Их выраженность и количество выше на фоне эндолимфатической коррекции полиоксидонием и цефпиромидом.

Практические рекомендации.

Полученные данные по применению полиоксидония при его эндолимфатическом введении позволяют предполагать эффективность этого способа в целях коррекции вторичных иммунодефицитов в условиях клиники.

Применение эндолимфатического введения цефпирамида может быть использовано в клинике для лечения воспалительных заболеваний.

Список работ, опубликованных по теме диссертации.

1. Подосёноква Т.В. Сравнительный анализ функциональной активности лимфоузла при лимфотропном и эндолимфатическом введении полиоксидония // Конгресс лимфологов России: Тез. докл.-М., 2000. - С.140.
2. Катаев С.И., Подосенкова Т.В., Кодина Т.В. Проллиферативная и рециркуляционная активность клеток лимфоидной ткани при эндолимфатическом введении полиоксидония// Конгресс лимфологов России: Тез. докл.-М., 2000. - С.213.
3. Подосенкова Т.В., Андреева С.А., Т.Л. Колобова Т.Л. Эндолимфатический метод введения иммуномодуляторов// Человек и лекарство. VIII Российский Национальный конгресс: Тез. докл. – М., 2001. - С. 272.
4. Подосенкова Т.В., Черненко Н.В.. Проллиферативная и рециркуляционная активность брыжеечных лимфатических узлов при эндолимфатическом введении полиоксидония при воспалении в брюшной полости// Международный Конгресс Хирургов: Тез. докл. – Петрозаводск, 2002. - С.148.
5. Подосенкова Т.В., Сесорова И.С. Функциональная морфология лимфатических узлов при эндолимфатическом введении лекарственных препаратов// Человек и вселенная, 2002.- С.-Пб., №5.- С.77-79.
6. Подосенкова Т.В. Влияние эндолимфатического введения полиоксидония на объёмную плотность лимфоидных элементов брыжеечных лимфатических узлов при иммунодепрессии// I Съезд Лимфологов России: Тез. докл. – М., 2003.- С. 40.
7. Подосенкова Т.В. Экспериментально-морфологическое обоснование эндолимфатической антибиотикотерапии цефпирамидом// Молодые женщины в науке: Тез. докл.-Иваново, 2004.- С.260-261.
8. Кодина Т.В., Подосенкова Т.В., Катаев С.И. Морфология лимфатических узлов брюшной полости в условиях эксперимента// Проблемы лимфологии и интерстициального массопереноса: Труды ГУ НИИКиЭЛ СО РАМН.- Новосибирск - Т.10.-Ч.1.- 2004.-С.192-195.

9. Подосёнова Т.В. Эндолимфатическая коррекция функциональной активности брыжеечных лимфатических узлов полиоксидонием //Молодая наука в классическом Университете: Тез. докл. науч. конф.- Иваново, 2005. - С. 36-37.
10. Подосёнова Т.В. Сравнительный анализ функциональной активности брыжеечных лимфатических узлов при иммунодефиците и последующем введении полиоксидония// Сборник научных трудов конференции “Актуальные вопросы хирургии и клинической анатомии”. Пермь: - 2004.- С. 117-119.

Список сокращений.

ГМЦР	-	Гемомикроциркуляторное русло
ГС	-	Группа сравнения
И. акт.	-	Индекс активации иммунной системы
И мит.	-	Индекс митотической активности
И мигр.	-	Индекс миграционной активности
Лб	-	Лимфобласт
ЛУ	-	Лимфатический узел
Лф	-	Лимфоциты
ПКВ	-	Посткапиллярная венула
Пл	-	Плазмоцит
СЭМ	-	Сканирующая электронная микроскопия
Vvk	-	Объемная плотность кавеол эндотелия лимфатических синусов

ПОДОСЁНКОВА ТАТЬЯНА ВАЛЕРЬЕВНА

«Морфофункциональная характеристика брыжеечных лимфатических узлов при экспериментальном иммунодефиците и перитоните»

В работе приведены результаты морфофункциональных исследований брыжеечных лимфатических узлов крыс при экспериментальном иммунодефиците и перитоните на фоне эндолимфатического введения полиоксидония и цефпирамида. Установлено, что эндолимфатическое введение полиоксидония на фоне иммунодефицитного состояния способствует повышению показателей объемной плотности лимфоидных элементов брыжеечных лимфатических узлов, митотической и миграционной активности иммунокомпетентных клеток. Так же показано, что эндолимфатическое введение полиоксидония и цефпирамида на фоне перитонита приводит к изменению морфофункционального состояния брыжеечных лимфатических узлов, повышая их иммунологическую функцию. Определены морфологические критерии для оценки результатов действия указанных лекарственных препаратов при их эндолимфатическом введении.

PODOSYONKOVA TATYANA VALERYEVNA

"Morphofunctional characteristic of mesenteric lymphatic nodes in experimental immunodeficiency and peritonitis"

The research represents results of a morphofunctional investigation of rats' mesenteric lymphatic nodes in experimental immunodeficiency and peritonitis on the background of an endolymphatic administration of polioxidonium and cephpiramid. It has been established that an endolymphatic administration of polioxidonium on the background of the immunodeficiency state contributes to an increase in the number of lymphoid cells of mesenteric lymphatic nodes, in immunocompetent cells' mitotic and migration activity. An endolymphatic administration of polioxidonium and cephpiramid on the background of peritonitis has been shown to lead to changes in the morphofunctional condition of mesenteric lymphatic nodes by changing their immunologic function. The morphofunctional criteria for assessing the effect of the above mentioned medications in their endolymphatic administration have been determined.

Подписано в печать 20 11 05

Формат 60x90 1/16
Усл. печ. л. 1,5

Печать RISO
Тираж 100 экз.

Напечатано с готовых оригиналов в ООО Типография «X-Press»
г. Иваново, пр. Ленина, 19.

№26338

РНБ Русский фонд

2006-4

28610