

УДК 611.428

МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ИЗУЧЕНИЯ ЛИМФОИДНЫХ  
ОБРАЗОВАНИЙ ТОНКОЙКИШКИ И БРЫЖЕЕЧНЫХ  
ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ У КРЫС С  
ПОМОЩЬЮ ВНУТРИБРЮШИННОГО ВВЕДЕНИЯ РАСТВОРА  
КИТАЙСКОЙ ТУШИ

Е.А. ИВАНОВА, Е.В. КОПЛИК\*

Данная статья посвящена изучению лимфоидных образований тонкой кишки и брыжеечных лимфатических узлов крыс с помощью раствора китайской туши.

**Ключевые слова:** китайская тушь, крысы, интраперитонеальное введение, интраперитонеальное введение, лимфоидные структуры, тонкая кишка, брыжеечные лимфатические узлы.

В научной литературе есть указания, что для изучения функциональных параметров лимфоидных образований по захвату и выведению чужеродных веществ используются прижизненные окраски [1,2,5]. Для этих целей применяются различные красители, например раствор китайской туши, метиленовый синий, карминовый красный т.д. [5]. Однако применение раствора китайской туши предпочтительно, так как оно безболезненно для экспериментальных животных и обеспечивает легкое поступление ее частиц даже в наиболее тонкие сосуды, что обеспечивает ясность микроскопической картины [2,5]. Обычно для изучения кровеносного и лимфатического русла брюшной полости используются способы прижизненного введения красителей в хвостовую вену или внутрибрюшинно [5,7]. Для изучения скорости выведения чужеродных веществ из полости брюшины и функциональных возможностей лимфоидных образований тонкой кишки и брыжеечных лимфоузлов мы выбрали второй способ. Известно, что именно лимфатическая, а не кровеносная система в брюшинной полости является основным транспортным путем для перемещения биологических веществ из полости брюшины во входящие в нее органы в норме и патологии [4]. Особую роль в этом процессе играют так называемые «лимфатические лакуны» (их называют еще «млечными пятнами» или «стомами») [1,2]. Клетки мезотелия, выстилающие серозные полости, при дыхании и перистальтике как бы «расходятся» по границам (декомплексируются). При этом лимфатические капилляры, находящиеся близко от поверхности мезотелия, остаются на поверхности прикрытыми лишь ретикулярными волокнами. Эти лимфатические лакуны могут служить «входными воротами» для частиц китайской туши в органы брюшинной полости (и возможно также для попадающих в нее патогенных микроорганизмов). Все, что всасывается из полости брюшины, задерживается далее в регионарных лимфатических узлах и после осуществления иммунологического контроля удаляется посредством кишечника и почек [9]. Селезенка задерживает антигены, попадающие в кровяное русло [3,4,6,7,8]. Скорость, с которой происходит удаление «чужеродных» веществ, позволяет судить о функциональной активности лимфоидной системы и адаптационных возможностях организма.

В 1888 г. Л. Тагучи и в 1900 г. К. Гроссер предлагали растереть тушь с куриным белком [5], но он не пригоден для наших целей, так как куриный белок вязок и не нейтрален как растворитель для инъекции в брюшинную полость экспериментальных животных. Поэтому для прижизненного введения туши мы использовали физиологический раствор, концентрация которого для позвоночных животных, по данным ряда авторов, составляет – 0,9% [5,7].

Вместе с тем в доступной научной литературе мы не обнаружили сведений о временных параметрах перемещения частиц туши из брюшинной полости в находящиеся в ней органы. Участие в этом процессе лимфоидных структур тонкой кишки и брыжеечных лимфатических узлов остается неизвестным.

**Цель исследования** – установить временные параметры перемещения частиц китайской туши из полости брюшины в брыжеечные узлы и лимфоидные структуры тонкой кишки.

**Материалы и методы исследования.** Исследования проведены на 6 крысах-самцах Вистар массой 220,0±5,2 г. В постановке эксперимента руководствовались требованиями приказов № 1179 МЗ СССР (11.10.1983 г.) и № 267 МЗ РФ (19.06.2003 г.), «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных живот-

ных» (ГУ НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, протокол №1 от 3.09.2005 г.) и «Правилами по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных» (МЗ СССР, 1977 г.; МЗ РСФСР, 1977 г.).

Заранее растертую с помощью надфиля китайскую тушь мы взвешивали на электронных весах. Непосредственно перед опытом 250 мг туши растворяли в 5,0 мл 0,9% физиологического раствора (NaCl) и прогревали в паровой бане, постоянно помешивая, до исчезновения видимого осадка и остужали до 37°C. Затем набирали 2 мл<sup>3</sup> надосадочной жидкости и вводили внутрибрюшинно каждому экспериментальному животному.

Мы декапитировали по одной крысе через 15 и 30 мин., 1-2 часа, 1 и 2 суток после введения раствора китайской туши. Сразу после выведения из опыта у животного забирались селезенка и участки подвздошной кишки длиной около 1 см с лимфоидными бляшками, а также брыжеечные лимфатические узлы. Фрагменты органов фиксировались в 10% растворе формалина в течение суток. Изготовление гистологических препаратов было проведено по общеизвестной методике [5] с окраской эозином, так как на фоне бледно-розовых клеточных структур четко выделялись черные частицы китайской туши. Изучение захваченных частиц туши производилось с применением бинокулярного микроскопа МБИ-3 (окуляр 10, объектив 40) на всей площади гистологического среза.

**Результаты и их обсуждение.** После декапитации мы вскрывали брюшную и грудную полости и проводили осмотр органов (без нарушения их целостности), при этом мы отмечали следующее:

- через 15 мин. после введения туши – визуально видны частицы туши по ходу лимфатических сосудов большого сальника;
- через 30 минут после инъекции мы обнаружили много частиц туши в лимфатических сосудах большого сальника (рис. 1). Отмечается видимое потемнение селезенки;
- через 1 час после введения туши, кроме большого сальника, частицы туши выявлены по ходу лимфатических сосудов брыжейки тонкой кишки (рис. 2), в печеночно-желудочной и селезеночно-желудочной связках;
- через 2 часа, в дополнение к вышеперечисленному, мы отметили отложение частиц туши по ходу лимфатических сосудов париетальной брюшины, выстилающей переднюю стенку живота крысы. Выявлено потемнение диафрагмальных и брыжеечных лимфатических узлов. Под капсулой печени и селезенки видны отложения частиц туши в виде нескольких возвышающихся островков (рис. 3);
- через одни сутки от начала эксперимента – брыжеечные и диафрагмальные лимфатические узлы приобрели черный цвет;
- через двое суток в брюшной полости появилось много жидкости (выпот), очевидно в связи начавшимся воспалением (перитонитом).



Рис. 1. Через 30 минут частицы туши проникли в большой сальник.

\* ГУ НИИ Нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН.



Рис. 2. Через 1 час частицы туши появились по ходу сосудов брыжейки тонкой кишки.



Рис. 3. Через 2 часа обнаруживалось отложение частиц туши в виде островков в селезенке, стенках желудка, в печени и в толще селезеночно-желудочной и печеночно-желудочной связок

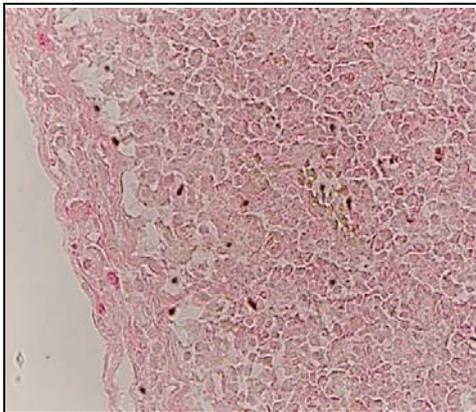


Рис. 4. Через 1 час частицы туши определялись под капсулой брыжеечного лимфатического узла и в его корковом веществе. Увеличение 640. Окраска эозином.

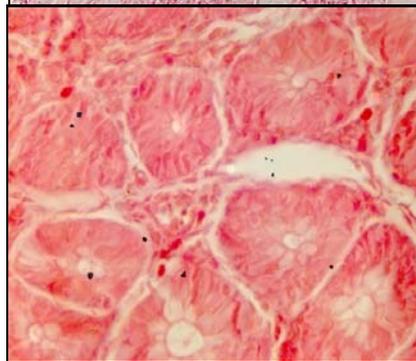


Рис. 5. Через 2 часа частицы туши обнаружались среди клеточных элементов ворсинки тонкой кишки и среди желез. Увеличение 640. Окраска эозином.

На гистологических препаратах. Но на гистологических препаратах, окрашенных эозином, на фоне бледно – розовых клеточных структур четко определялись черные частицы туши разных размеров.

Через 15 минут после введения раствора туши мы обнаружили ее в красной пульпе селезенки (в ее венозных синусах).

Через 30 минут после инъекции в селезенке выявляется множество частиц туши во всех ее структурах.

Через час после введения препарата мы обнаружили единичные частички туши в брыжеечных лимфоузлах. Они находились, в основном, в просвете их краевых синусов и в корковых зонах (рис. 4).

Спустя два часа, в дополнение к вышеописанному, большое количество частиц туши было выявлено в стенке подвздошной кишки. Тушь была обнаружена среди клеток и основания эпителиальной выстилки кишечных ворсинок, в просвете крипт и около выводных протоков желез (рис. 5). В лимфоидной бляшке частицы туши находились в мантии лимфоидных узелков и межузелковой зоне. Селезенка содержала очень большое количество частиц туши во всех структурах (тотальное окрашивание). В брыжеечном лимфатическом узле мы выявили частицы туши в краевом синусе, корковом веществе и мантийной зоне лимфоидных узелков.

Через сутки после внутрибрюшинного введения раствора китайской туши лимфатический узел практически был «забит» частичками туши. В лимфоидной бляшке подвздошной кишки их количество значительно возросло.

Через двое суток частицы туши заполнили все синусы и структуры брыжеечного лимфатического узла, количество их в структурных компонентах лимфоидных бляшек и в стенке подвздошной кишки значительно увеличилось.

Таким образом, для изучения функциональной активности лимфоидных образований тонкой кишки и брыжеечных лимфатических узлов у крыс с помощью китайской туши рационально забирать изучаемые органы через два часа после внутрибрюшинного прижизненного введения её раствора.

Мы выражаем благодарность старшему научному сотруднику института «Морфологии человека» РАМН Аминовой Г.Г. за помощь и консультацию гистологических препаратов.

Работа поддержана грантом президента Российской Федерации для поддержки ведущих научных школ Российской Федерации (грант № НШ-3232.2008.4).

Литература

1. Аминова Г.Г., К вопросу о функциональной морфологии корней лимфатической системы, Архив анатомии, гистологии, эмбриологии, 1972, №9, С. 33-41.
2. Аминова Г.Г., Морфология резорбции коллоидных растворов и взвесей из брюшной полости в лимфатические капилляры диафрагмы, Архив анатомии, гистологии, эмбриологии, 1968, №8, С. 44-53.
3. Жданов Д.А., Общая анатомия и физиология лимфатической системы, Л, Медгиз, 1952, 465 с.
4. Колобов С.В., Ярема И.В., Зайратьянц О.В., Основы регионарной иммунотерапии [иммуномодулирующая терапия заболеваний органов дыхания и пищеварения], М, ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2001, 184 с.
5. Ромейс Б., Микроскопическая техника, М., «Иностранная литература», 1953, 718 с.
6. Сатин М.Р., Этинген Л.Е., Иммунная система человека, М., Медицина, 1996, 304 с.
7. Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л., Анатомия крысы, Санкт-Петербург, «Лань», 2001, 234 с.
8. Пальцев М.А., Кветной И.М. Руководство по нейроиммуноэндокринологии // М., "Медицина", 2006. 382 с.
9. Рабсон А., Поит А., Делез П. Основы медицинской иммунологии // М., "Мир", 2006. 320 с.

STUDYING SMALL INTESTINE LYMPHOID STRUCTURES OF THE AND MESENTERIC LYMPHATIC NODES IN RATS BY MEANS OF INTRAPERITONEAL INTRODUCTION OF INDIAN INK SOLUTION

YE.A. IVANOVA, YE.V. KOPLIK

Moscow Medical Academy after I.M. Sechenov, Chair of Human Anatomy, Research Institute of Normal Physiology after P.K. Anokhin

This article presents the method of studying small intestine lymphoid entities and mesenteric lymphatic nodes of Wistar rats by means of Indian ink solution.

**Key words:** Indian ink, rats, lymphoid structures, small intestine, mesenteric lymphatic nodes.

УДК 616.61.63.-053.3-071

РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА ОБСТРУКТИВНЫХ УРОПАТИЙ У ДЕТЕЙ С ПРЕНАТАЛЬНО ВЫЯВЛЕННЫМ РАСШИРЕНИЕМ ВЕРХНИХ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ

Б.М. ЛОЛАЕВА\*

Проведено ультразвуковое исследование 102 плодов с расширением верхних мочевых путей. У 81 плода выявлена пиелэктазия разной степени выраженности, а у 21 плода наряду с пиелэктазией выявлена и уретерэктазия. После рождения все дети находились под динамическим ультразвуковым наблюдением, в процессе которого выявлено, что у большей половины детей (53) признаки дилатации чашечно-лоханочной системы постепенно исчезли, а у другой группы детей (49) выявлено сохранение дилатации чашечно-лоханочной системы (28) и мочеточника (21). У всех детей второй группы отсутствовала положительная ультразвуковая динамика в течение 6 месяцев и им было проведено полное урологическое обследование, по результатам которого была определена лечебная тактика.

**Ключевые слова:** обструктивные уропатии, ультразвуковое исследование, пиелэктазия, уретерэктазия.

Частота врожденных пороков развития мочевыделительной системы неуклонно растет и составляет 2-8 случаев на 1000 новорожденных [1]. Последние годы отмечается рост количества детей, у которых врожденная патология мочевыделительной системы определяется в антенатальном периоде и среди антенатально выявляемых пороков занимает третье место и составляет 26-28% [2].

Проведенные исследования мочевой системы у плодов выявили расширение верхних мочевых путей разной степени выраженности и они послужили основанием для постнатального динамического ультразвукового наблюдения, по результатам которого определялась дальнейшая тактика ведения этих детей.

**Материалы и методы исследования.** Проведено ультразвуковое обследование 102 плодов, у которых выявлены признаки дилатации верхних мочевых путей. Исследование почек и мочеточников у плодов проводилось при их поперечном и про-

дольном сканировании. При поперечном сканировании определяли переднезадний размер лоханки, оценивали толщину паренхимы. При продольном сканировании исследовании состояние чашечек и верхней трети мочеточника.

За УЗ-критерии дилатации лоханки принимали их размеры более 5 мм на ранних сроках гестации (20 недель) и более 10 мм на 36-38 неделе [3,4].

За эхосонографические критерии дилатации чашечек и мочеточника принималась их визуализация [3,4].

Исследование кровотока в почечных артериях плода проводилось при поперечном сканировании с использованием датчика в 5 МГц. Почечный кровоток оценивали по максимальной систолической скорости с расчетом индекса резистентности [5]. Для дифференциальной диагностики функционального и органического характера обструктивного процесса в прилоханочном и пузырно-мочеточниковом сегментах мочеточника у плода проводилась динамическая эхосонография мочевой системы с диуретической нагрузкой. Исследования проводились на 30-38 неделе гестации. Беременной внутримышечно вводилось 20 мг фуросемида, а затем, после водной нагрузки, проводилось эхосонографическое исследование мочевой системы у плода; определяли изменение размеров лоханки, мочеточника и мочевого пузыря, проводилась оценка адекватности опорожнения верхних мочевых путей.

Начиная с раннего постнатального периода все дети находились под наблюдением. Проведено ультразвуковое исследование мочевой системы у всех 102 новорожденных с пренатально выявленным расширением верхних мочевых путей по обычной методике. Структуру почки и состояние верхней трети мочеточника оценивали при исследовании со стороны передней брюшной стенки, а измерения проводили со стороны спины. Внутрпочечный кровоток оценивали в режиме цветного доплерографического картирования. Всем детям сделали анализ мочи, а при необходимости проводили дополнительные методы исследования.

**Результаты и их обсуждение.** Обследовано 102 плода с расширением верхних мочевых путей различной степени выраженности. Из них у 81 плода выявлена пиелэктазия от 5 до 10 мм и более. У 21 плода выявлено одностороннее (8) и двустороннее (13) расширение мочеточников. Для определения характера нарушений уродинамики верхних мочевых путей у плодов проводилась синхронная регистрация размеров расширенной лоханки, мочеточника и мочевого пузыря в пределах микционного цикла [6]. Это позволило определить уровень и вариант уродинамических нарушений, которые у 5 плодов подтвердились ещё и проведением эхосонографии мочевых путей с диуретической нагрузкой.

У 10 плодов был зарегистрирован стабильный вариант пиелэктазии, что является антенатальным уродинамическим признаком наличия гидронефроза; а у 9 плодов – стабильный вариант уретерпиелэктазии, что является антенатальным уродинамическим признаком наличия обструктивного мегауретера.

В постнатальном периоде всем детям в динамике проводилось ультразвуковое исследование мочевой системы [7,8,9]. В зависимости от уровня и характера уродинамических нарушений, дети с пренатально выявленной дилатацией верхних мочевых путей были разделены на 3 группы. В первую группу вошли 53 новорожденных, у которых в антенатальном периоде была выявлена пиелэктазия до 10 мм без расширения чашек и мочеточника; во вторую – 28 детей с пиелэктазией более 10 мм, у 10 из них отмечалось и расширение чашек; в третью группу – 21 ребенок с пиелэктазией более 10 мм, расширением чашек и мочеточника.

При динамическом УЗИ новорожденных из первой группы отмечена положительная динамика, размеры лоханки постепенно уменьшались и через 6-12 месяцев нормализовались. Во второй группе у 18 детей выявлена пиелэктазия до 14-15 мм при нормальном состоянии паренхимы почки и нормальной доплерографической картине. При повторном исследовании через 1 мес у них отмечалось уменьшение размеров лоханки. Эти дети находятся под динамическим наблюдением уролога. У 10 новорожденных второй группы при повторном УЗИ пиелэктазия увеличилась до 18-24 мм на фоне деструкции почечной паренхимы и обеднения почечного кровотока. Учитывая отсутствие положительной динамики, им была проведена инфузионная урография, которая подтвердила данные УЗИ: отмечалось расширение ЧЛС, нарушение секреторной и экскреторной функции почки. Проведенное урогнетологическое исследование подтвердило наличие гидронефроза у 10 детей, им были выполнены реконструк-

\* ГОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия Росздрава», г.Владикавказ.