

Транспорт лимфы: роль лимфатических узлов

Лаборатория физиологии кровообращения Института физиологии им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург

e-mail: gilobov@yandex.ru

Реферат

Изучены параметры сокращений гладких мышц капсулы лимфатических узлов. Спонтанные сокращения капсулы имеют большую продолжительность. Фаза сокращения гладких мышц, продолжающаяся до 35 с, способствует длительному повышению давления в лимфатическом узле и эффективному перемещению лимфы по синусам узла от афферентных лимфатических сосудов к его воротам. Симпатическая нервная система оказывает стимулирующее влияние на параметры транспортной функции лимфатических узлов посредством активации α_1 - и α_2 -адренорецепторов на мембране гладкомышечных клеток капсулы узлов. Мы полагаем, что лимфатические узлы в системе транспорта лимфы, так же, как и лимфатические сосуды, выполняют функцию активных насосов.

Ключевые слова: гладкомышечные клетки, капсула лимфатических узлов, фазные сокращения, давление, нервная регуляция.

Lobov G. I., Pan'kova M. N.

Lymph flow: role of lymph nodes

Pavlov Institute of Physiology RAS, St. Petersburg

e-mail: gilobov@yandex.ru

Abstract

We studied the contractile activity of smooth muscles of a lymph nodes capsule. Spontaneous contractions of capsule have a prolonged duration. Phase of contraction, which lasts up to 35 seconds, promotes long-term increase in pressure in node and provides the efficient movement of lymph in node's sinuses from the afferent lymphatic vessels to hilus. The sympathetic nervous system has a stimulating effect on the parameters of the transport function of the lymph nodes by the activation of α_1 - and α_2 -adrenergic receptors on smooth muscle cell membrane of the capsule lymph nodes. We believe that the lymph nodes as well as lymphatic vessels function as active pumps in the lymphatic transport system.

Keywords: smooth muscle cells, capsule of lymph nodes, contraction, pressure.

Введение

Лимфатическая система выполняет в организме несколько функций, осуществление которых возможно только в случае эффективного транспорта лимфы от корней лимфатической системы — лимфатических капилляров до места впадения основных лимфатических коллекторов в крупные вены шеи [5, 6, 9, 10, 28]. В отличие от сердечно-сосудистой системы, в лимфатической системе нет централизованного насоса. Лимфа транспортируется от места образования в органах и тканях до впадения основного лимфатического коллектора в крупные вены шеи преимущественно за счет ритмических сокращений сегментов лимфатических сосудов — лимфангионов, в стенке которых имеется несколько слоев гладкомышечных клеток [1, 5, 6, 20, 22, 28]. Однако по ходу лимфатических сосудов располагаются лимфатические узлы, и, в соответствии с законом Маскани [5], лимфа обязательно проходит хотя бы через один лимфатический узел, а в большинстве органов и тканей — через несколько [11, 12, 25]. Лимфатические узлы являются серьезным препятствием для продвижения лимфы, поскольку основная часть их внутреннего пространства заполнена лимфоидной тканью. Лимфоидная ткань пронизана многочисленными синусами, по которым лимфа медленно перемещается от места

впадения приносящих лимфатических сосудов до ворот лимфатического узла [4, 12, 24]. Синусы лимфатических узлов имеют ширину 20–60 мкм, а отростки литоральных клеток, создающие сложную трехмерную сеть [11, 16, 24], существенно увеличивают гидродинамическое сопротивление узлов.

Снаружи лимфатический узел покрыт капсулой, в состав которой, помимо соединительнотканых элементов, входит значительное количество гладкомышечных клеток [3, 11, 15, 16]. Несмотря на то, что гладкие мышцы в капсуле лимфатических узлов обнаружены достаточно давно и имеются работы, в которых выявлена спонтанная сократительная деятельность гладкомышечных клеток капсулы лимфатических узлов [17, 26, 27], их роль в продвижении лимфы остается неясной. Неизвестны величины напряжений в капсуле узла, нет данных о внутриузловом или трансмуральном давлении и его изменениях в процессе сокращений гладких мышц капсулы.

В литературе крайне мало данных о нервной регуляции сократительной функции гладкомышечных клеток капсулы лимфатических узлов, хотя многочисленными морфологическими исследованиями установлено, что лимфатические узлы обладают развитым нервным аппаратом [23]. Среди

разнообразных нервных окончаний, имеющих в ЛУ, выявлено наличие адренергических нервных волокон, играющих значительную роль в процессах иммуногенеза [14]. Что касается модулирующего влияния адренергических нервных волокон на сократительную деятельность гладкомышечных клеток лимфатических узлов, то представленные в литературе сведения противоречивы [17, 19].

Цель исследования

Изучение пассивных и активных механических характеристик капсулы лимфатических узлов, определение напряжений в капсуле и расчет трансмурального давления при расслаблении и сокращении гладких мышц капсулы. Также проведено исследование нервной регуляции транспортной функции лимфатических узлов, дана оценка роли адренорецепторов мембраны гладкомышечных клеток лимфатических узлов в реализации нервной регуляции их сократительной функции.

Материал и методы исследования

Лимфатические сосуды и узлы вырезали из брыжейки быков через 15 минут после обескровливания животных и в охлажденном физиологическом растворе доставляли в лабораторию. Кольца, вырезанные в средней части лимфангионов брыжеечных афферентных ($n=28$) и эфферентных ($n=34$) лимфатических сосудов, и полоски — капсулы лимфатических узлов ($n=46$) — размещали в камере для экспериментальных исследований с постоянной перфузией физиологическим солевым раствором следующего состава (мм/л): NaCl — 120,4; KCl — 5,9; CaCl_2 — 2,5; MgCl_2 — 1,2; NaH_2PO_4 — 1,2; NaHCO_3 — 15,5; глюкоза — 11,5 при $t=37\pm 0,1^\circ\text{C}$ [6]. Предварительное натяжение препаратов соответствовало трансмуральному давлению 2 см H_2O . После установления стабильных параметров фазных сокращений натяжение увеличивали до величин, соответствующих трансмуральному давлению 4, а в последующем 6, 8 и 10 см H_2O . Сократительную активность препаратов (базальный тонус, амплитуда и частота фазных сокращений) регистрировали с помощью датчика FORT-10. Информация от датчика поступала на АЦП и обрабатывалась программой «Labmaster».

С целью активации нервных волокон, входящих в состав капсулы лимфатического узла, применяли электрическую стимуляцию полем. Для проведения электростимуляции использовали хлорсеребряные электроды, расположенные на передней и задней стенках камеры, а в качестве генератора стимулирующих импульсов — электростимулятор ЭС 50-1. В ходе экспериментов применяли следующие параметры электростимуляции: амплитуда стимула — 55 В, длительность — 0,5 мс, частота — 8 и 16 Гц [13]. Продолжительность стимуляции составляла 4 мин, интервал между сериями стимулов — 10 мин.

Обработку полученных результатов проводили с помощью программы «StatSoft STATISTICA 6.1.478». Полученные данные представлены в виде средних значений с их стандартным отклонением ($M\pm SE$). Для установления достоверности различий использо-

вали критерий t Стьюдента и критерий Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты исследования

Все кольца, вырезанные в средней части лимфангионов афферентных и эфферентных лимфатических сосудов, обладали спонтанной фазной сократительной активностью. Через 10–15 минут с начала эксперимента устанавливались стабильные тонус и параметры фазных сокращений лимфатических сосудов, которые при отсутствии внешних воздействий без существенных изменений регистрировались на протяжении нескольких часов.

Препараты капсулы лимфатических узлов также имели стабильный уровень тонического напряжения. В 32 полосках были зарегистрированы спонтанные фазные сокращения, параметры которых в процессе исследования несколько изменялись. Их частота составляла в среднем $0,8\pm 0,14 \text{ мин}^{-1}$, амплитуда — $1,7\pm 0,21 \text{ мН}$. Принципиальным отличием фазных сокращений гладкомышечных клеток капсулы лимфатических узлов по сравнению с сокращениями гладкомышечных клеток лимфатических сосудов была их значительная продолжительность: в среднем — $72\pm 8,4 \text{ с}$ (в афферентных сосудах — $2,7\pm 0,31 \text{ с}$, эфферентных — $4,5\pm 0,52 \text{ с}$). На рис. 1 показаны фрагменты записи сократительной деятельности препаратов афферентного и эфферентного лимфатических сосудов и полоски — капсулы лимфатических узлов.

Одним из параметров, характеризующих механические свойства объекта, является модуль упругости Юнга. Модуль упругости капсулы узла оказался равным около $0,05 \cdot 10^5 \text{ Н/м}^2$. При изменении деформации от 0,2 до 0,7 S_0 этот показатель практически не изменялся, его величина была меньше модуля упругости стенки лимфатических сосудов [6]. При дальнейшем удлинении полосок модуль упругости капсулы узла быстро возрастал и при длинах 1,0–1,1 L_0 превышал аналогичный показатель для лимфатических сосудов, достигая величин, характерных для вен [8, 13].

Для создания потока лимфы по синусам лимфатического узла основное значение имеет ритмическое повышение трансмурального давления в узле, реализуемое за счет сокращений гладких мышц капсулы. Прямых измерений внутриузлового давления до настоящего времени не проводилось. В связи с этим на основании полученных данных о напряжениях в капсуле лимфатического узла нами расчетным методом было определено трансмуральное давление и его колебания от минимума (при расслабленных гладких мышцах капсулы) до максимума (на пике спонтанного сокращения). Расчет величины трансмурального давления производили в соответствии с законом Лапласа для сферы. Гладкие мышцы капсулы лимфатического узла оказались способными развивать достаточно большое напряжение. При исходном давлении в узле 2 см H_2O в процессе спонтанных синхронных сокращений гладких мышц капсулы внутриузловое давление повышалось до 7,5 см H_2O .

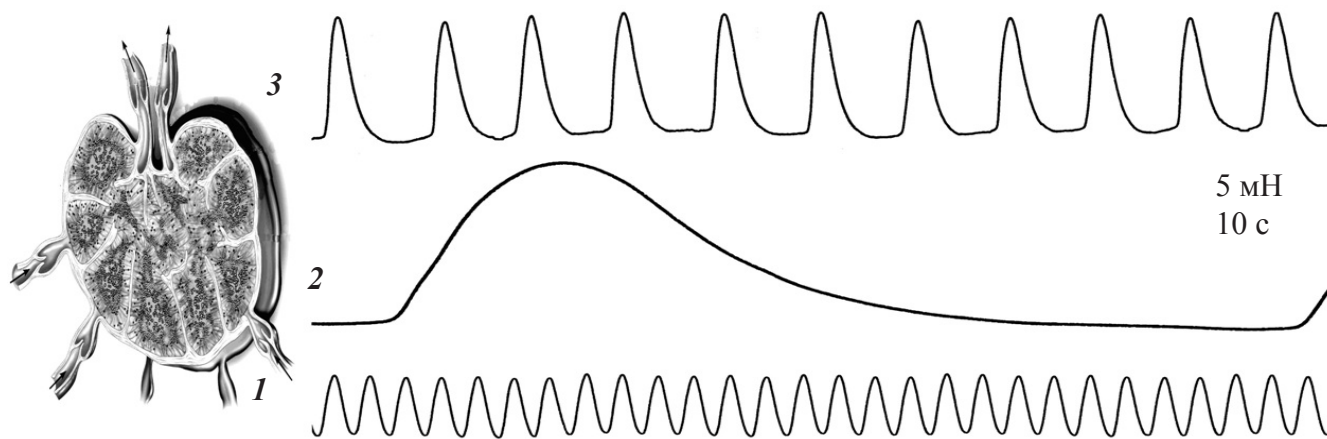


Рис. 1. Фазные сокращения гладких мышц: 1 — афферентного лимфатического сосуда; 2 — капсулы лимфатического узла, 3 — эфферентного лимфатического сосуда. Исходное натяжение препаратов соответствовало трансмуральному давлению 4 см H_2O

С целью выявления нервного контроля сократительной функции гладких мышц капсулы лимфатических узлов была проведена серия экспериментов с использованием электрической стимуляции нервных волокон, находящихся в капсуле узла ($n=24$). Стимуляция препаратов с частотами 8 и 16 Гц и длительностью стимулов 0,5 мс приводила к усилению сократительной активности гладких мышц капсулы, заключающемуся в повышении уровня тонического напряжения, увеличении частоты фазных сокращений и снижении их амплитуды. Введение в перфузат тетродотоксина (ТТХ), являющегося блокатором быстрых Na^+ -каналов, которые широко представлены в нервных волокнах и отсутствуют на мембране ГМК, в концентрации $1 \cdot 10^{-6}$ М/л практически полностью предотвращало усиление сократительной активности препаратов, обусловленное электростимуляцией: изменения тонуса и параметров фазной сократительной деятельности составляли не более 10–15 % от таковых в отсутствие ТТХ.

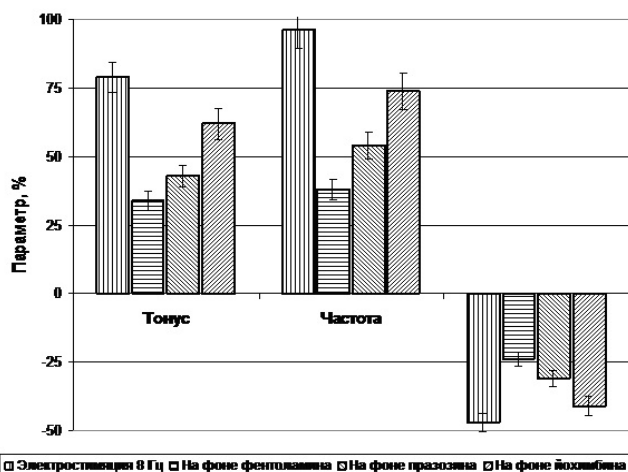


Рис. 2. Изменения тонуса, частоты и амплитуды фазных сокращений гладкомышечных клеток капсулы брыжеечных лимфатических узлов быка при электростимуляции с частотой 8 Гц в физиологическом растворе и на фоне действия фентоламина ($5 \cdot 10^{-6}$ М/л), празозина ($1 \cdot 10^{-6}$ М/л) и йохимбина ($1 \cdot 10^{-6}$ М/л). Столбик в положительном направлении показывает увеличение соответствующего параметра по отношению к его величине в физиологическом растворе в %, в отрицательном направлении — уменьшение параметра, $p < 0,05$

Для установления вовлеченности адренорецепторов на мембране гладкомышечных клеток капсулы лимфатических узлов в регуляции сократительной активности была проведена серия опытов с применением норадреналина. Эффекты норадреналина проявлялись в виде усиления как фазной, так и тонической активности гладкомышечных клеток капсулы лимфатических узлов (рис. 2). Минимальная действующая концентрация норадреналина составила $1 \cdot 10^{-9}$ М/л. По мере повышения концентрации норадреналина в физиологическом растворе значительное нарастание тонуса гладких мышц (начиная с концентрации $1 \cdot 10^{-6}$ М/л) приводило к редукции фазной активности вплоть до ее полного прекращения на фоне значительного возрастания тонуса. Блокада α -адренорецепторов неселективным блокатором фентоламинем ($1 \cdot 10^{-6}$ М/л) предотвращала активирующее действие норадреналина (рис. 2).

Для определения подтипа α -адренорецепторов, вовлекаемых в реализацию контрактильного эффекта электростимуляции, в физиологический раствор вводили празозин. На фоне селективной блокады α_1 -адренорецепторов празозином ($1 \cdot 10^{-6}$ М/л) ($n=10$) электростимуляция сопровождалась меньшим повышением базального тонуса, меньшим увеличением частоты и незначительным уменьшением амплитуды фазных сокращений. Блокирующий эффект применения празозина в общих чертах напоминал таковой при добавлении в раствор фентоламина, но был несколько меньшим. Для оценки вклада α_2 -адренорецепторов в реакцию гладкомышечных клеток капсулы узлов на электростимуляцию следующую серию опытов проводили на фоне действия йохимбина ($1 \cdot 10^{-6}$ М/л) ($n=8$). Блокада α_2 -адренорецепторов достоверно снижала сократительные эффекты электростимуляции, однако величина этого снижения была существенно меньше по сравнению с эффектом блокады α_1 -адренорецепторов празозином.

Обсуждение результатов

В литературе в основном представлены данные об иммунологической функции лимфатических узлов и их роли в распространении опухолевых клеток. О том, что лимфатические узлы принимают

активное участие в транспорте лимфы, упоминается лишь в нескольких работах [2, 3, 18, 19]. Параметры сокращений их капсулы, в состав которой входят гладкомышечные клетки, изучены мало [8, 19, 26], а механические характеристики капсулы представлены в 2–3 работах [8]. Рассчитанный нами модуль упругости капсулы лимфатических узлов при изменении деформации от 0,2 до 0,7 So оказался равным около $0,05 \cdot 10^5$ Н/м², т. е. меньше модуля упругости стенки лимфатических сосудов [6]. Другими словами, капсула лимфатического узла является хорошо растяжимой в значительном диапазоне деформаций. Высокая растяжимость капсулы лимфатического узла свидетельствует об отсутствии значительного сопротивления со стороны узла притоку лимфы в узел по афферентным лимфатическим сосудам. Последние лимфангионы афферентных лимфатических сосудов, развивающие в процессе сокращения гладких мышц значительное трансмуральное давление [6], способны эффективно закачивать лимфу в лимфатический узел. Однако они не могут обеспечить дальнейшее продвижение лимфы по синусам лимфатических узлов. Подъем давления в афферентных лимфатических сосудах в фазу сокращения гладкомышечных клеток является кратковременным (около 1,5 с), а синусы узлов имеют значительную протяженность и узкие просветы (20–60 мкм), они пронизаны отростками литоральных клеток, существенно повышающими их гидродинамическое сопротивление [16, 24]. Следующий этап транспорта лимфы реализуется за счет синхронных сокращений гладких мышц капсулы лимфатических узлов. Амплитуда фазных сокращений капсулы лимфатических узлов незначительно отличается от аналогичного показателя для лимфатических сосудов [1, 6, 7, 10, 19, 20]. В то же время продолжительность сокращений в десятки раз больше по сравнению с лимфатическими сосудами. Эта особенность сократительной функции капсулы лимфатических узлов имеет принципиальное значение. Только продолжительные сокращения (по нашим данным, длительность только фазы сокращения гладких мышц капсулы лимфатических узлов может достигать 35 с), длительно повышающие давление в узле, способны обеспечить эффективное перемещение лимфы по синусам узла в направлении, определяемом клапанами афферентных и эфферентных лимфатических сосудов, т. е. к воротам узла. В дальнейшем лимфа, поступающая из узлов в эфферентные лимфатические сосуды, транспортируется по ним за счет сокращений стенки лимфатических сосудов.

Транспорт лимфы по лимфатической системе регулируется за счет нескольких механизмов [6, 19, 22], в том числе, как указывалось ранее, и за счет нервной регуляции [21, 21, 26]. Нервная модуляция сокращений капсулы лимфатических узлов описана

в нескольких работах, но данные, представленные в них, противоречивы [17, 21, 26]. В связи с этим нами было предпринято собственное исследование, в котором было показано, что электростимуляция полосок капсулы лимфатических узлов с частотами 8 и 16 Гц и длительностью стимулов 0,5 мс приводила к выраженному усилению сократительной активности их гладких мышц. Как известно, электростимуляция объектов, содержащих гладкомышечные клетки, стимулами длительностью менее 1 мс не оказывает прямого возбуждающего влияния на миоциты, сокращение мышц является результатом возбуждения нервных волокон, входящих в состав капсулы [20]. Это заключение также было подтверждено в опытах с применением тетродотоксина, являющегося блокатором быстрых Na⁺-каналов, которые широко представлены в нервных волокнах и отсутствуют на мембране ГМК (n=9) [26]. На фоне тетродотоксина возбуждающий эффект электростимуляции составлял не более 10–15 % от такового в физиологическом растворе. Таким образом, можно считать доказанным наличие в капсуле брыжеечных лимфатических узлов быка нервной регуляции, оказывающей преимущественно возбуждающий эффект.

Поскольку на фоне действия фентоламина возбуждающий эффект электростимуляции снижался в значительной степени, мы полагаем, что стимулирующий эффект нервных волокон в капсуле лимфатических узлов реализуется преимущественно через активацию α -адренорецепторов. Подтипы α -адренорецепторов, вовлекаемые в процесс активации гладких мышц капсулы лимфатических узлов при электростимуляции, определялись в экспериментах с применением празозина и йохимбина, являющихся, соответственно, блокаторами α_1 - и α_2 -адренорецепторов. Поскольку возбуждающий эффект электростимуляции полосок капсулы лимфатических узлов снижался при добавлении в физиологический раствор и празозина, и йохимбина, мы приходим к заключению о том, что нервная модуляция сократительной функции гладких мышц капсулы лимфатических узлов осуществляется преимущественно через активацию α_1 - и α_2 -адренорецепторов на мембране гладкомышечных клеток, преобладающим является эффект стимуляции α_1 -адренорецепторов.

Заключение

Способность гладких мышц капсулы лимфатических узлов развивать длительные высокоамплитудные сокращения позволяет им наравне с лимфангионами выполнять функцию активных насосов в системе транспорта лимфы. Симпатическая нервная система оказывает стимулирующее влияние на параметры транспортной функции лимфатических узлов посредством активации α_1 - и α_2 -адренорецепторов на мембране гладкомышечных клеток капсулы узлов.

- Борисов, А. В. Конструкция лимфангиона в норме и патологии / А. В. Борисов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2005. — № 2 (14). — С. 66–68.
2. Бородин, Ю. И. Лимфатический узел при циркуляторных нарушениях / Ю. И. Бородин, В. Н. Григорьев. — Новосибирск: Наука; Сибир. отд., 1986.
3. Выренков, Ю. Е. Современные данные о структурно-функциональной организации лимфатического узла / Ю. Е. Выренков [и др.] // Морфология. — 1995. — № 108 (3). — С. 84–90.
4. Выренков, Ю. Е. Реакция лимфатических узлов на лекарственное насыщение лимфатической системы / Ю. Е. Выренков, В. К. Шишло, В. Е. Вазило // Сб. науч. тр. «Памяти академика Д. А. Жданова». — М., 1998. — С. 38–39.
5. Жданов, Д. А. Общая анатомия и физиология лимфатической системы / Д. А. Жданов. — Л.: Медгиз, 1952.
6. Лобов, Г. И. Реологические свойства крупных лимфатических сосудов / Г. И. Лобов // Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова. — 1990. — № 76 (3). — С. 371–377.
7. Лобов, Г. И. NO-зависимая модуляция сократительной функции гладких мышц капсулы лимфатических узлов / Г. И. Лобов, М. Н. Панькова // Росс. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. — 2010. — № 90 (5). — С. 489–497.
8. Лобов, Г. И. Характеристика активных и пассивных механических свойств капсулы лимфатических узлов / Г. И. Лобов // Доклады Академии наук. — 2010. — № 434 (6). — С. 825–828.
9. Петренко, В. М. Структурные основы в структурной организации активного лимфооттока / В. М. Петренко // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2005. — № 2 (14). — С. 5–12.
10. Петров, С. В. Механизмы активного транспорта лимфы / С. В. Петров [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2002. — № 4 (4). — С. 62–67.
11. Пугач, П. В. Строение краниальных брыжеечных лимфатических узлов у новорожденных крысят / П. В. Пугач // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2011. — № 1 (37). — С. 71–74.
12. Сапин, М. Р. Лимфатический узел / М. Р. Сапин, Н. А. Юрина, Л. Е. Этинген. — М.: Медицина, 1978.
13. Berceci, S. A. Biomechanics of the venous wall under simulated arterial conditions / S. A. Berceci // J. Biomech. — 1990. — № 23 (10). — P. 985–989.
14. Elenkov, I. J. The sympathetic nerve—an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system / I. J. Elenkov [et al] // Pharm. Rev. — 2000. — № 52 (4). — P. 595–638.
15. Faroon, O. M. Smooth muscle distribution in the capsule and trabeculae of the caprine superficial cervical lymph node / O. M. Faroon [et al] // Histol. Histopathol. — 1987. — № 2 (3). — P. 313–315.
16. Folse, D. N. Smooth muscle in lymph node capsule and trabeculae / D. N. Folse, G. A. Beathard, N. A. Granholm // Anat. Rec. — 1975. — № 183 (4). — P. 517–522.
17. Ikomi, F. Electrical stimulation-induced alpha1- and alpha2-adrenoceptors-mediated contractions of isolated canine lymph nodes / F. Ikomi [et al] // Auton. Neurosci. — 2002. — № 96 (2). — P. 85–92.
18. McGeown, J. G. The effect of electrical stimulation of the sympathetic chain on peripheral lymph flow in the anaesthetized sheep / J. G. McGeown [et al] // J. Physiol. — 1987. — № 393. — P. 123–133.
19. McGeown, J. G. The effects of field stimulation on bovine mesenteric lymph node contractility / J. G. McGeown, M. J. Gallagher // Pflugers Archiv. — 1990. — № 416. — P. 667–672.
20. McHale, N. G. The effect of transmural pressure on pumping activity in isolated bovine lymphatic vessels / N. G. McHale, I. C. Roddie // J. Physiol. — 1976. — № 261 (2). — P. 255–269.
21. McHale, N. G. Lymphatic innervation / N. G. McHale // Blood Vessels. — 1990. — № 27 (2–5). — P. 127–136.
22. McHale, N. G. Co-ordination of pumping in isolated bovine lymphatic vessels / N. G. McHale, M. K. Meharg // J. Physiol. — 1992. — № 450. — P. 503–512.
23. Mignini, F. Autonomic innervation of immune organs and neuroimmune modulation / F. Mignini, V. Streccioni, F. Amenta // Auton. Autacoid. Pharmacol. — 2003. — № 23 (1). — P. 1–25.
24. Ohtani, O. Structure and function of rat lymph nodes / O. Ohtani, Y. Ohtani // Arch. Histol. Cytol. — 2008. — № 71 (2). — P. 69–76.
25. Schmid-Schönbein, G. W. Microlymphatics and lymph flow / G. W. Schmid-Schönbein // Physiol. Rev. — 1990. — № 70 (4). — P. 987–1028.
26. Thornbury, K. D. Nerve-mediated contractions of sheep mesenteric lymph node capsules / K. D. Thornbury [et al] // J. Physiol. — 1990. — № 422. — P. 513–522.
27. Tümer, A. Spontaneous contractions and stretch-evoked responses of isolated lymph nodes / A. Tümer [et al] // J. Muscle Res. Cell Motil. — 1983. — № 4 (1). — P. 103–113.
28. Zawieja, D. C. Contractile physiology of lymphatics / D. C. Zawieja // Lymphat. Res. Biol. — 2009. — № 7 (2). — P. 87–96.