

МЕТОДИКА

© Султанов Д.В., Хугаева В.К., 2014
УДК 616-092

Султанов Д.В., Хугаева В.К.

Метод прижизненного изучения микроциркуляции легких у крыс с помощью модифицированной камеры

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук,
125315, Москва, ул. Балтийская, 8

Предлагается модифицированный метод, который позволяет проводить прижизненное изучение микроциркуляции легких крысы при помощи специальной камеры. Особенностью метода является стабильная фиксация ткани легкого, что исключает ее смещение во время исследования. Получено изображение поверхностных тканей легких в естественных условиях (альвеолы с окружающими их со всех сторон капиллярами).

Ключевые слова: метод, микроциркуляция, легкие, альвеолы

Sultanov D.V., Khugaeva V.K.

Metod in vivo study of the microcirculation in rat lung using a modified technique

Institute of General Pathology and Pathophysiology of the Russian Academy of Medical Sciences,
125315, Baltiskaya Street, 8, Moscow, Russia

A modified technique that allows in vivo study microcirculation in the rat lungs using a special camera. Feature of the method is stable fixation of lung tissue, which prevents its displacement during the study. Imaged surface of the lung tissue (alveoli with surrounding them on all sides capillaries).

Key words: method, microcirculation, lung, alveolus

Изучение микроциркуляции в постоянно двигающихся органах, таких, как сердце и легкие, представляет большую проблему, связанную с решением нескольких задач: создание неподвижных участков для биомикроскопии, фото- и видеoreгистрации микрососудов не нарушая физиологической активности органа.

Отсутствие широкого распространения прямых методов и заводского оборудования для изучения микроциркуляции в легких приводит к использованию косвенных методов оценки легочной циркуляции при интерпретации изменений микроциркуляции в других органах, более доступных для исследования. Примером могут служить работы, в которых изучают микроциркуляцию бульбоконъюнктивы глаза человека [2], брыжейки тонкой кишки крысы [8], используют лазерную допплеровскую флюметрию с целью найти возможную аналогию с изменениями в микрососудах легких в условиях патологии.

Более 300 лет прошло с начала изучения микроциркуляторного русла легких. Первые работы Mal-

righi (1686—1687 гг.) были выполнены на легком лягушке. Значительно позже моделью исследования легких были и другие животные: ежи, крысы, кролики, морские свинки, кошки, собаки [1, 3—7, 9—10]. Однако до настоящего времени нет полного представления о строении системы микроциркуляции легких и ее функционировании. Это приводит к неадекватному использованию лекарственных препаратов при патологии легких.

Примером может служить применение при пневмонии и отеке легких некоторых препаратов с целью дегидратации легких. По данным [8], среди них встречается большое число веществ наоборот тормозящих моторику лимфатических микрососудов, что способствует гипергидратации тканей.

Цель нашей работы — создание доступной и несколько упрощенной модификации метода изучения микроциркуляции легких с помощью камеры для мелких экспериментальных животных.

В работе апробирован новый вариант метода прижизненного изучения микроциркуляции легких. Важной особенностью метода является стабильная фиксация ткани легкого, что исключает ее смещение во время исследования.

Для корреспонденции: Султанов Делюс Вильевич (Sultanov Delius Vilevich), к.с. лаборатории хронического воспаления и микроциркуляции НИИ ОПП РАМН, e-mail: delsv2014@mail.ru

Главным составным элементом является специальная камера (рис. 1), позволяющая использовать контактный объектив (ЛОМО) с увеличением $\times 10$.

Камера состоит из цилиндра с двойными стенками. Внутренний диаметр камеры равен 6 мм, наружный — 10 мм. Полость между стенками изолирована. Исключением являются три участка с отверстиями в нижней части цилиндра, сделанные специально для фиксации легкого в результате создания отрицательного давления между стенками фиксатора. Отверстия расположены с трех сторон. Четвертое отверстие не производилось с целью предотвращения нарушений микроциркуляции на поверхности исследуемой части легкого.

Снаружи камера жестко закрепляется с помощью специального фиксатора к столику для исследования животного.

Методика используется у наркотизированных хлоралгидратом животных (1,6 мг/кг массы животного в/м) массой 200—350 г. Далее производится трахеостомия с временным подключением к аппарату искусственного дыхания ЭМИБ. Животное располагают на специальном операционном столике. На уровне 5—6 межреберного промежутка производится торакотомия с удалением одного из ребер на протяжении 1 см. В образовавшееся окно устанавливается камера. В камере создается отрицательное давление в результате откачивания воздуха через специальную металлическую трубку (рис. 1). При этом легкое фиксируется к устройству, что создает удовлетворительные условия для исследования поверхности легкого (рис. 2).

Для дополнительной герметизации плевральной полости по наружному контуру камеры фиксируется кусок kleenчатой ткани, которая плотно прилегает к тканям в непосредственной близости от отверстия в грудной клетке. После установки камеры (общее затраченное время от момента начала торакотомии до фиксации легкого не превышало 2 мин) крысы отключаются от аппарата искусственного дыхания. В образовавшееся окно вводится контактный объектив. Поверхность исследуемого участка легкого предварительно орошается физиологическим раствором.

На рис. 2 представлена биомикроскопическая картина легких в норме, в которой каждая альвеола окружена капиллярным ободком.

Предложенная методика отличается от других методов исследования микрососудов легких отсутствием стеклянного перекрытия цилиндра и громоздкого крепежа. Она дает качественное прижизненное изображение поверхностных тканей легких крысы, что позволяет напрямую изучать микроциркуляцию легких.

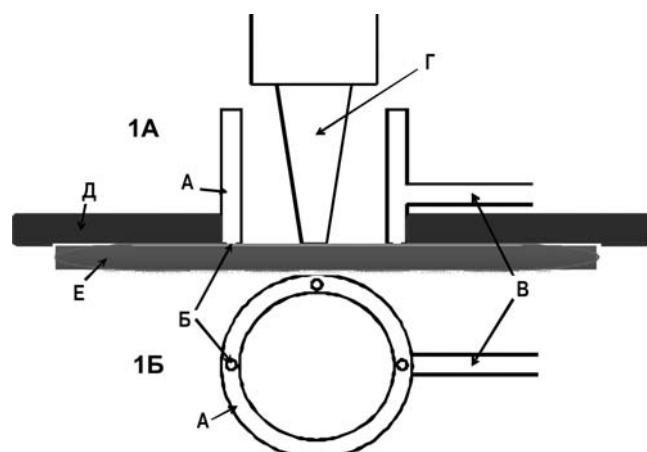


Рис. 1. Схема камеры для изучения микроциркуляции легких у крысы в остром эксперименте:

- 1А — вид сбоку;
- 1Б — вид с легочной поверхности:
- А — камера;
- Б — отверстие для фиксации ткани легкого;
- В — металлическая трубка для откачивания воздуха из внутренней части камеры;
- Г — контактный объектив с увеличением $\times 10$;
- Д — грудная клетка;
- Е — ткань легкого.

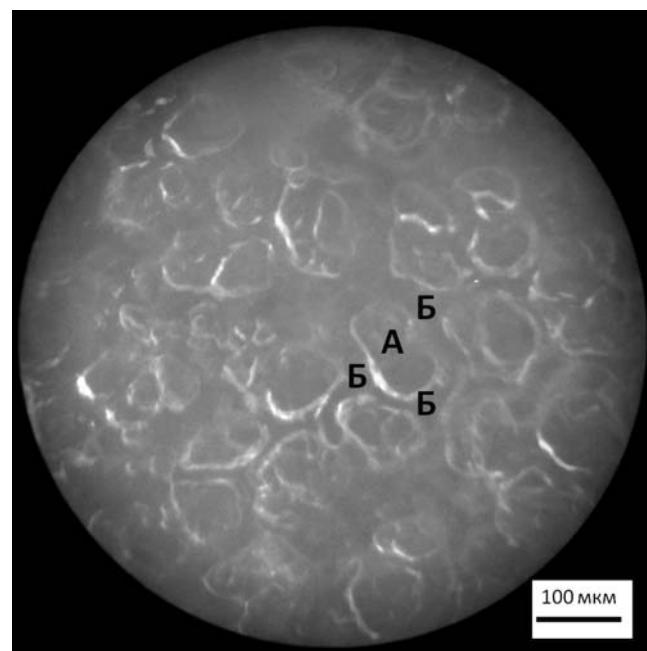


Рис. 2. Биомикроскопия легких:

Список литературы

1. Алейников С.О. *Микроциркуляция и гемодинамика легких в норме и при экспериментальной пневмонии*: Автoref. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. М.; 1991, 23 с.
2. Егоршин В.Ф. *Состояние микроциркуляции у больных хроническими неспецифическими заболеваниями легких*: Автoref. дисс. на соискание ученой степени к.м.н., Л., 1982, 19 с.
3. Иванов К.П., Мельникова Н.Н., Потехина И.Л. Конструкция сети микрососудов легких и особенности кровообращения в них. *Бюлл. экспер. биол.* 2011; 4: 368–70.
4. Иванов К.П., Потехина И.А., Алюхин Ю.С., Мельникова Н.Н. Микроциркуляция в легких: некоторые особенности конструкции и динамика. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2010; 3: 81–3.
5. Красников В.Е. *Структурно-функциональные аспекты изучения микроциркуляции легких в условиях нормы и патологии (экспериментальное исследование)*: Автoref. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. М.; 1981, 27 с.
6. Маруев Д.С. *Микроциркуляция в легких при лучевой болезни*. Микроциркуляция. М., 1972: С.193–4.
7. Саноцкая Н.В., Мациевский Д.Д., Алейников С.О. Легочное и бронхиальное кровообращение, микроциркуляция легких при острой гипоксической гипоксии. *Успехи физiol. наук*. 1994; 25 (4): 53–8.
8. Султанов Д.В., Хугаева В.К. Лимфостимулирующая активность препаратов, применяемых при отеке легких. *Патогенез*. 2011; 3: 65.
9. Bhattacharya S., Glucksberg M.R., Bhattacharya I. Measurement of lung microvascular pressure in the intact anesthetized rabbit by the micropuncture technique. *Circulat. Res.* 1989; 64 (1): 167–72.
10. Wearn J.T., Ernstene A.C., Bromer A.W. et al. The normal behavior of the pulmonary blood vessels with observations on the intermittence of the flow of blood in the arterioles and capillaries. *Amer. J. Physiol.* 1934; 109: 236–56.

References

1. Aleynikov S.O. *Microcirculation and lung hemodynamics in normal and experimental pneumonia*: Avtoref. Diss. na soiskanie uchenoy stepeni k.m.n. — Moscow, 1991, 23 s. (in Russian)
2. Egorshin V.F. *Microcirculation in patients with chronic nonspecific lung diseases*: Avtoref. Diss. na soiskanie uchenoy stepeni k.m.n., L., 1982, 19 s. (in Russian)
3. Ivanov K.P., Mel'nikova N.N., Potekhina I.L. Network design and features of pulmonary microvascular blood flow in them. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2011; 4: 368–70. (in Russian)
4. Ivanov K.P., Potekhina I.A., Alyukhin Yu.S., Mel'nikova N.N. Microcirculation in the lungs: some design features and dynamics. *Regional circulation and microcirculation*. 2010; 3: 81–3. (in Russian)
5. Krasnikov V.E. *Structural and functional aspects of the study of the lung microcirculation in normal and pathological conditions (experimental study)*: Avtoref. Diss. na soiskanie uchenoy stepeni k.m.n. Moscow, 1981, 27 s. (in Russian)
6. Maruev D.S. Microcirculation in the lungs during radiation sickness. *Microcirculation*. M., 1972: S.193–4. (in Russian)
7. Sanotskaya N.V., Matsievskiy D.D., Aleynikov S.O. Pulmonary and bronchial circulation, pulmonary microcirculation during acute hypoxic hypoxia. *Advances Physiol. Sciences*. 1994; 25 (4): 53–8. (in Russian)
8. Sultanov D.V., Khugaeva V.K. Limfostimuliruyashchaya activity of the preparations used in pulmonary edema. *Pathogenesis*. 2011. №3. S.65. (in Russian)
9. Bhattacharya S., Glucksberg M.R., Bhattacharya I. Measurement of lung microvascular pressure in the intact anesthetized rabbit by the micropuncture technique. *Circulat. Res.* 1989; 64 (1): 167–72.
10. Wearn J.T., Ernstene A.C., Bromer A.W. et al. The normal behavior of the pulmonary blood vessels with observations on the intermittence of the flow of blood in the arterioles and capillaries. *Amer. J. Physiol.* 1934; 109: 236–56.

Поступила 10.07.14
Received 10.07.14

Сведения об авторах:

Хугаева Валентина Каргоеvна (Khugaeva Valentina Kargoevna) — гл. науч. сотр. лаборатории хронического воспаления и микроциркуляции НИИ ОГП РАМН