

БИОМИКРОСКОПИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА БРЫЖЕЙКИ ТОНКОЙ КИШКИ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ (LD₅₀) НИТРИТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И КОРРЕКЦИИ ИНФУЗИЕЙ ПЕРФТОРАНА

© 2012

Абдурахманова Д.Б.* , Магомедов М.А., Магомедов Х.М.,

Османова А.А., Рагимова Д.М., Бакуев М.М.

*Каспийское медицинское училище

Дагестанская государственная медицинская академия

На экспериментальной модели острого перорального отравления 70 белых беспородных крыс нитритом натрия методом биомикроскопии брыжейки тонкой кишки установлены прогрессирующие через 30, 90 и 180 минут сосудистые, внутрисосудистые и внесосудистые признаки патологической перестройки всех звеньев русла. Инфузии физиологического раствора (контроль) и перфторана (опыт) в целях коррекции нитритных интоксикаций свидетельствуют о преимуществе перфторана в раннем, эффективном восстановлении как структурных изменений микроциркуляторного русла брыжейки, так и реологии крови. Это, в свою очередь, позволит рекомендовать использование перфторана в комплексе лечебных мероприятий при стандартных и тяжелых случаях нитритной интоксикации организма.

On the experimental model of the acute peroral poisoning of 70 white outbred rats with the sodium nitrite with the method of biomicroscopy of small intestine mesentery the authors found progressive in 30-90 and 180 minutes vascular, intravascular and outvascular features of the pathological reconstruction of all the parts of the microcirculatory channel. The infusions of saline (control) and Perftoran (experiment) for correcting the nitrate intoxication indicate the superiority of Perftoran in the early effective reconstruction of both the structural changes in the microcirculatory mesentery channel and the blood rheology. It by-turn allows recommending the use of Perftoran in a complex of treating measures in standard and severe cases of the nitrite intoxication.

Ключевые слова: острые нитритные интоксикации, микроциркуляторное русло, перфторан.

Keywords: acute nitrite intoxication, microcirculatory channel, Perftoran.

Актуальность. Возрастающий во многих странах мира нитратно-нитритный прессинг в настоящее время представляет собой реальную угрозу для здоровья населения, учитывая, что указанные соединения азота в организм человека поступают преимущественно с пищей и питьевой водой [13]. Доказано, что нитриты постоянно присутствуют в организме и эндогенно синтезируются человеком [13, 14]. Нитраты и нитриты также широко применяются в качестве лекарственных средств сосудорасширяющего действия [1, 6, 12]. Известно, что тяжесть токсических поражений при острых нитритных интоксикациях обусловлена возникновением дозозависимой полиорганной недостаточности на почве метгемоглобинемии, гемической и

гистотоксической гипоксии, нарушения реологии крови и микроциркуляции [1, 7, 10, 11], что диктует необходимость поиска новых комплексных мер их коррекции и профилактики.

Созданный в России на основе перфторуглеродов плазмозаменитель с газотранспортной функцией – перфторан (ПФ) – обладает полифункциональным действием: увеличивает кислородную емкость крови, увеличивает объем циркулирующей крови, улучшает реологию крови и микроциркуляцию, является мембранопротектором и имеет детоксикационные свойства [1-3, 8]. Описанные свойства ПФ, на наш взгляд, являются патогенетически обоснованными для его апробации в эксперименте с целью коррекции нарушений микроциркуляции при острых нитритных интоксикациях.

Цель исследования.

Морфофункциональная характеристика микроциркуляторного русла (МЦР) брыжейки тонкой кишки (БТК) крыс в динамике воспроизведения острого (ЛД₅₀) отравления нитритом натрия и коррекции инфузией ПФ.

Материал и методы исследования

Работа выполнена на 70 белых беспородных крысах обоего пола, массой 180-200 г., распределенных на 4 группы экспериментов:

I – интактные животные – 10;

II – модель острого отравления нитритом натрия без коррекции – 20;

III – модель острого отравления нитритом натрия + коррекция инфузией физиологического раствора (контроль) – 20;

IV – модель острого отравления нитритом натрия + коррекция инфузией ПФ (опыт) – 20.

Модель острого перорального отравления нитритом натрия у крыс воспроизводилась по известной методике [1, 4] путем введения в желудок наркотизированным (в/м, кетамин – 25 мг/г массы тела) животным нитрита натрия в дозе ЛД₅₀ (50 мг/г массы тела, т. е. 10 мг на 1 животное). Исследования проводились во II группе, через 30, 90 и 180 минут после отравления, а в III и IV группах, через 30, 90 и 180 минут после коррекции отравления, однократным введением в хвостовую вену 1,0 мл физиологического раствора (контроль) и ПФ (опыт).

Биомикроскопия БТК на указанных сроках наблюдения проводилась по известной методике (в модификации В.И. Козлова, 1972). Для биомикроскопии и микрофотосъемки использовался микроскоп «Wilomed» (Германия) с видеокамерой, сопряженной с компьютером, при ув. 7Ч15. Морфометрия диаметра микрососудов проводилась на мониторе компьютера с помощью специальной оттарированной линейки. Все полученные цифровые данные распределялись на выборки и подвергались статистической обработке, используя пакет прикладных программ «Statistica» фирмы Statsoft Inc. (2001), Version 6.0. Значимость различия параметрических данных оценивали, используя t-критерий Стьюдента. Непараметрические данные обрабатывались с использованием критерия χ^2 (в ряде случаев с поправкой Йетса).

Результаты исследования и их обсуждение.

Биомикроскопия БТК интактных крыс установила, что приносящие мелкие артерии давали начало артериолам, которые постоянно сопровождалась венами и широко анастомозировали между собой, кровоток в них всегда сплошной гомогенный. В центре сосуда выделялась оптически плотная часть кровотока (осевой поток), вдоль стенок обнаруживался более светлый, прозрачный участок потока (пристеночный слой). Контуры артериол ровные, четкие, число вазомоторных осцилляций составлял 17 в 1'. Диаметр артериол интактных крыс колебался в пределах 15–21 мкм и в среднем составлял 18 мкм. Артериолы, ветвясь по своему ходу, отдавали прекапилляры с таким же кровотоком. Число вазомоторных осцилляций их составлял в среднем 28 в 1', а диаметр равнялся 10,6 мкм. Капиллярное русло БТК интактных крыс представлено мелкопетлистой равномерной сетью. Контуры капилляров ровные, четкие. Кровоток в магистральных сосудах сплошной гомогенный, а в сегевых – сплошной зернистый. Диаметр капилляров БТК интактных крыс варьировал от 5 до 9 мкм и в среднем составлял 7 мкм. Наряду с транкапиллярным путем кровотока в БТК интактных крыс периодически выявлялись и пути юкстакапиллярного кровотока, чаще всего в виде «полупунктов» с характерным для магистральных капилляров кровотоком. Слиянием венозных сегментов нескольких капилляров формировались посткапилляры, которые, в свою очередь, образовывали вены.

Посткапилляры и венулы отличались слегка волнистым ходом, ровными, четкими контурами и сплошным зернистым кровотоком. Диаметр посткапилляров в среднем составлял 12,2 мкм, а венул – 20,9 мкм. Биомикроскопия БТК позволила выявить и лимфатические сосуды, представлявшие собой каналы диаметром 60-140 мкм (в среднем 120 мкм) с регулярным наличием клапанов и ритмическим сокращением лимфангионов – 12 в 1'.

Через 30' после острого отравления нитритом натрия в первую очередь следует отметить визуальные признаки общего замедления скорости кровотока, особенно в отводящих звеньях микроциркуляторного русла, отличавшихся зернистым или прерывистым характером кровотока. Изменения резистивных сосудов выражались в их полнокровии, замедлении и зернистости кровотока. В артериолах число вазомоторных волн снижалось до 11 в 1', а в прекапиллярах до 21 в 1'. Нарушение работы сократительных элементов артериол и прекапилляров обуславливало разнообразие нарушений капиллярной микроциркуляции в БТК в виде повышения их извилистости, зернистости и прерывистости кровотока. Морфометрия диаметра основных групп микрососудов МЦР БТК выявила достоверное их расширение, по сравнению с интактными значениями, где вазодилатация артериол составила 7,2%, прекапилляров – 3,7%, капилляров – 23%, посткапилляров – 14% и венул – 2% ($P \leq 0,05$) (табл.).

Таблица

Средние величины диаметра основных звеньев МЦР БТК крысы на этапах моделирования и коррекции острой нитритной интоксикации инфузией плазмозаменителей (по данным биомикроскопии; 6 мкм; $M \pm m$; $n = 30$; $P \leq 0,05$)

Группы экспериментов	Сроки экспериментов	Звенья микроциркуляторного русла БТК				
		А	Па	К	Пв	В
Интактные животные	-	18±0,2	10,6±0,2	7,0±0,2	12,2±0,3	20,9±0,3
Модель отравления без коррекции	30'	19,3±0,1	11,0±0,2	8,6±0,2	13,9±0,2	21,3±0,2
	90'	21,9±0,2	12,6±0,2	9,2±0,1	14,7±0,1	25,7±0,3
	180'	20,5±0,2	12,2±0,1	9,0±0,1	13,5±0,1	24,3±0,3
Модель отравления+ коррекция физ. раств. (контроль)	30'	19,2±0,1	11,3±0,1	8,7±0,1	14,0±0,1	22,6±0,2
	90'	20,5±0,1	12,0±0,1	8,9±0,1	13,8±0,1	23,4±0,3
	180'	20,0±0,2	11,7±0,1	8,5±0,2	13,3±0,2	23,0±0,2
Модель отравления + коррекция ПФ (опыт)	30'	20,0±0,2	11,5±0,2	8,0±0,1	13,5±0,1	22,0±0,2
	90'	19,0±0,1	10,7±0,1	7,3±0,1	12,9±0,1	21,0±0,1
	180'	18,5±0,1	10,4±0,1	6,9±0,2	12,7±0,2	20,8±0,1

Через 30' после нитритной интоксикации отмечались выраженные деформации лимфатических сосудов, их диаметр увеличивался на 7,5%, по сравнению с интактными значениями ($P \leq 0,05$), а количество сокращений лимфангионов уменьшалось до 8 в 1'.

Через 90' после нитритной интоксикации определялось дальнейшее нарастание сосудистых, внутрисосудистых и внесосудистых изменений МЦР БТК. На данном этапе нитритной интоксикации биомикроскопия показала дальнейшее возрастание пропускного режима артериол и прекапилляров, обусловленное как дальнейшим ослаблением миогенной активности сосудов, так и состоянием их динамических приборов. Так, число вазомоторных волн артериол уменьшалось до 8 в 1', вазодилатация увеличивалась на 22%, по сравнению с интактной группой и на 13% ($P \leq 0,05$), по сравнению с 30' наблюдения (табл.). Диаметр прекапилляров, по сравнению с 30', увеличивался на 14,5%, а по сравнению с интактными значениями – на 18,8% ($P \leq 0,05$). Кровоток в прекапиллярах выявлялся сплошным зернистым или прерывистым, что характеризует существенное замедление его скорости.

Через 90' после нитритной интоксикации заметно уменьшилось число перфузируемых капилляров, кровотоки сохранялись преимущественно в извилистых магистральных сосудах с замедленным зернистым или прерывистым потоком крови. В отдельных микрососудах выявлялись агрегаты эритроцитов и признаки стаза. Контур капилляров выглядели нечеткими (по-видимому, обусловлено повышением их проницаемости, периваскулярным отеком). Диаметр капилляров возрастал на 7% по

сравнению с 30' и на 31,4% по сравнению с интактной группой ($P \leq 0,05$). Перестройка путей капиллярного кровотока сопровождалась частым появлением в поле зрения функционирующих артериоло-венулярных анастомозов, которые вместе с магистральными капиллярами составляли основную часть сосудов, связывающих пути доставки и оттока крови. Посткапилляры и венулы выглядели более извилистыми с замедленным током крови. В отдельных посткапиллярах и мелких венулах определялись локальные зоны стаза, агрегации форменных элементов крови, а периваскулярный фон становился «мутным», контуры сосудов нечеткими. Диаметр посткапилляров и венул, по сравнению с интактными, увеличивался на 20,4 и 23% соответственно ($P \leq 0,05$), а по сравнению с 30' сроком – на 57% и 20,6% соответственно ($P \leq 0,05$).

Биомикроскопия показала дальнейшее нарушение ритма миогенной активности лимфатических сосудов с уменьшением числа сокращений лимфангионов до 6 в 1' и увеличением диаметра на 30% (по сравнению с интактными) и на 21% по сравнению с 30' сроком интоксикации ($P \leq 0,05$).

Через 180' после острой нитритной интоксикации обращало на себя внимание дальнейшее прогрессирование описанных выше признаков патологической перестройки МЦР БТК и нарушения кровотока. При этом определялась резкая деформация контуров лимфатических сосудов, в просвете которых обнаруживались форменные элементы крови. Среднее число сокращений лимфангионов уменьшалось до 1 – 2 в 1', а диаметр лимфатических сосудов увеличивался на 40% (по сравнению с интактными значениями; $P \leq 0,05$).

Через 30-90' после контрольной коррекции острого отравления нитритом натрия инфузией физиологического раствора, биомикроскопия БТК показала в целом аналогичную картину изменений МЦР БТК, характерную до коррекции.

Лишь через 180' после контрольной коррекции обнаруживались признаки стабилизации и определенной регрессии патологической перестройки МЦР БТК. Так, артериолы и прекапилляры имели менее выраженную извилистость, кровоток в них выглядел заметно ускоренным с сплошным зернистым характером потока. Диаметр их уменьшился на 2,4-2,5% соответственно по сравнению с 90' сроком наблюдения (табл.).

В капиллярном звене МЦР обращало на себя внимание определенное снижение их извилистости, увеличение плотности перфузируемых участков капиллярных сетей. Однако зернистость и прерывистость кровотока в большинстве капилляров сохранялась.

Изменения емкостного звена микроциркуляторного русла БТК крысы на данном сроке контрольной коррекции характеризовались визуальным снижением извилистости контуров посткапилляров и венул с определенным ускорением кровотока в них. Однако кровоток в них был сплошным зернистым, а в отдельных посткапиллярах и мелких венулах сохранялись признаки стаза, агрегации форменных элементов крови. Морфометрия посткапилляров и венул показала менее выраженное, чем в артериолах уменьшение их дилатации (табл.1). Анализ изменений лимфатических сосудов БТК выявил отсутствие резких деформаций их контуров и повышение ритмических сокращений до 8 в 1', т.е. в 2 раза, по сравнению с предыдущим сроком наблюдения (90').

Через 30' после опытной коррекции инфузией ПФ в артериолах и прекапиллярах МЦР БТК, так же как и в контроле, не определялись значительные признаки их коррекции. Тем не менее среднее число вазомоторных осцилляций артериол увеличивалось до 8 в 1'. В значительной части артериол слабо контурировался пристеночный плазматический слой, а диаметр их достоверно уменьшался на 8% (по сравнению с исходным), что на 4% больше, чем на аналогичном сроке в контрольной группе ($P \leq 0,05$). Через 30' после инфузии ПФ в большинстве прекапилляров определялось заметное снижение их извилистости, ускорение кровотока, хотя струя крови имела чаще гранулярный характер. Диаметр прекапилляров уменьшился на 23% (по сравнению с исходным), что на 4% больше, чем в аналогичной контрольной группе (табл.1). На данном этапе наблюдения обращало на себя внимание большее, чем в контроле, повышение числа функционирующих капилляров с ускоренным кровотоком.

Морфометрия показала уменьшение их диаметра на 30% (по сравнению с исходным), что на 11% больше, чем в аналогичном контроле ($P \leq 0,05$). На данном сроке наблюдения необходимо отметить более выраженное, чем в контроле снижение извилистости, полнокровия посткапилляров и венул БТК, а также отсутствие лимфатических сосудов с резкими деформациями контуров или содержащих форменные элементы крови. Среднее число сокращений лимфангионов увеличивалось до 6 в 1', что на 2 сокращения больше, чем в контроле. Диаметр лимфатических сосудов по сравнению с исходным уменьшился на 18% ($P \leq 0,05$), что на 7% больше, чем в контроле ($P \leq 0,05$).

Через 90' после коррекции нитритной интоксикации инфузией ПФ витальная микроскопия выявила дальнейшее нарастание характерной позитивной перестройки МЦР БТК, наметившейся на предыдущем сроке (30') наблюдения. В резистивных сосудах такая динамика обеспечивалась за счет повышения миогенной активности стенок сосудов их динамических приборов. Кровоток в артериолах и прекапиллярах приобретал сплошной гомогенный характер, число вазомоторных осцилляций увеличивалось до 8 и 15 в 1' соответственно, что на 4 в 1' больше, чем в контроле. Диаметр артериол снижался на 15% от величины исходного, что на 7% больше, чем в контроле (табл.).

Через 90' после инфузии ПФ отмечалось значительное возрастание числа перфузируемых сетевых и магистральных капилляров, кровотоки в них выглядели ускоренным, зернистым. Средний показатель диаметра капилляров уменьшился, по сравнению с предыдущим сроком наблюдения, на 19% ($P \leq 0,05$), что больше, чем в контроле на 7% ($P \leq 0,05$). Восстановительная перестройка капиллярного кровотока сопровождалась и активацией его в артериоло-венулярных анастомозах, где, по сравнению с магистральными капиллярами, поток крови выглядел более интенсивным, сплошного гомогенного характера.

Оценка состояния отводящего звена МЦР БТК на данном этапе коррекции ПФ обнаружила дальнейшее снижение извилистости их контуров и ускорение кровотока. Морфометрия их диаметра показала его уменьшение, как по сравнению с предыдущим сроком (30') наблюдения, так и по сравнению с контролем (табл.). Перестройка лимфатических сосудов БТК характеризовалась значительным снижением деформации их контуров и вазодилатации. Отмечалось визуально регистрируемое ускорение тока лимфы с активацией деятельности лимфангионов. При этом число сокращений лимфангионов возрастало до 9 в 1', средний их диаметр уменьшался на 30% (по сравнению с 30' сроком наблюдения), что на 21% больше, чем в аналогичном контроле.

Через 180' после коррекции нитритной интоксикации инфузией ПФ обращала на себя внимание дальнейшая превосходящая, чем в контроле, коррекция сосудистых, внутрисосудистых и внесосудистых признаков патологической перестройки практически всех звеньев МЦР БТК. При этом показатели их диаметра максимально приближались к таковым в интактной группе экспериментов (табл.).

Таким образом, обобщая полученные результаты, можно отметить, что острое (ЛД₅₀) пероральное отравление нитритом натрия сопровождается появлением сосудистых, внутрисосудистых и внесосудистых признаков прогрессирующей в динамике интоксикации организма патологической перестройки всех звеньев МЦР БТК крысы. При этом манифестирующими являются признаки вазодилатации, нарушения реологии крови и повышения сосудистой проницаемости.

Выводы

Использование инфузий физиологического раствора и ПФ в целях коррекции нарушений микроциркуляции при острых нитритных интоксикациях организма свидетельствует о преимуществе последнего в раннем, эффективном восстановлении как структурных изменений МЦР БТК, так и реологических свойств крови. Это, в свою очередь, позволит рекомендовать включение инфузий перфторана в комплекс лечебных мероприятий при стандартных и тяжелых клинических случаях нитритной интоксикации организма.

Примечания

1. Булаева Н. И. Биохимические и структурно-функциональные изменения эритроцитов при остром отравлении нитритами и их коррекция перфтораном: Автореф. дисс. ...канд. биол. наук. Махачкала, 2004. 22 с. 2.

Газимагомедова М. М. Структурно-функциональные изменения мембран эритроцитов при остром отравлении метафосом и их коррекции перфтораном: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Махачкала, 1999. 24 с. 3. Голубев А. М. Перфторуглеродные активные среды для медицины и биологии // Новые аспекты исследований. Пушино, 1993. С. 82-83. 4. Иваницкая Н. Ф. Методика получения разных стадий гемической гипоксии у крыс введения нитрита натрия // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. М., 1976. № 3. С. 69-71. 5. Козлов В. И. Экспериментально-морфологическое изучение микроциркуляции крови и структурной организации путей кровотока по данным витальной микроскопии: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. М., 1972. 6. Метелица В. И., Давыдов А. Б. Препараты нитратов в кардиологии // Механизм действия нитратов. М., 1987. С. 26-28. 7. Ополь Н. И. Особенности токсического воздействия нитратов, содержащихся в растительных продуктах // Вопросы питания. 1991. № 6. С. 15-20. 8. Османова А. А. Динамика микроциркуляторного русла фиброзных мембран при компрессионной травме мягких тканей конечностей и коррекции инфузией ПФ: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Волгоград, 2010. 21 с. 9. Цвайфах Б. В. Изменения микроциркуляции при геморрагическом шоке // Актуальные проблемы в общей патологии и патологической физиологии. М., 1976. С. 162-174. 10. Шиффман Ф. Дж. Патология крови / перев. с англ. М.-СПб., 2009. 448 с. 11. Шугалей И. В., Цельницкий И. В., Малинина Т. В. О токсическом действии нитрита натрия // Гигиена и санитария. 1991. № 4. С. 49-53. 12. Aguilina S., Felice H., Boba M. J. Allergic reactions to glyceril trinitrate and isosorbide dinitrate demonstrating cross - sensitivity // Clin. Exp. Dermatol. 2002. № 27(8). P. 700-702. 13. Gupta S. K., Gupta R. S, Seth A. K et al. Methemoglobinemia in areas with high nitrate concentration in drinking water // Nat Med J. India. 2000. № 13(2). P. 58-61. 14. Yamashita T., Ando Y., Sakashita N et al. Role of nitric oxide in the cerebellar degeneration during methylmercury intoxication // Biochim. Biophys. Acta. 1997. № 1334(2-3). P. 303-311.

Статья поступила в редакцию 09. 09.2012 г.