

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ

УДК 612.13:616.151.55-099

ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА И ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОДИНАМИКИ, РЕОЛОГИИ КРОВИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОЙ (LD₅₀) НИТРИТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ОРГАНИЗМА

©2012 Абдурахманова Д.Б., Магомедов М.А., Османова А.А., Магомедов. Х.М.

Дагестанская государственная медицинская академия

Изучены изменения микроциркуляторного русла твердой оболочки головного мозга, фиброзной капсулы почки, брыжейки тонкой кишки, мышечной части диафрагмы, а также показателей гемодинамики, реологии у крыс в процессе острого (LD₅₀) перорального отравления нитритом натрия. Результаты свидетельствуют о прогрессирующих через 30-90-180 минут после отравления признаках патологической перестройки кровеносных и лимфатических звеньев микроциркуляторного русла указанных объектов, сопровождающихся существенным снижением объема циркулирующей крови, скорости капиллярного кровотока, деформируемости эритроцитов и возрастанием вязкости, гематокрита крови.

Changes of bed micro circulative hard shell of the brain, kidney fibrous capsule, mesentery, muscle of the diaphragm, as well as hemodynamics, rheology in rats during acute (LD₅₀) oral toxicity of sodium nitrite was studied by the authors of the article. The results indicate a progressive, through 30-90-180 minutes after poisoning, signs of pathological alteration units of blood and lymphatic microvasculature of these objects, accompanied by a significant reduction in blood volume, capillary blood flow velocity, erythrocyte deformability and increased viscosity and hematocrit levels.

Ключевые слова: острые нитритные отравления, микроциркуляторное русло, показатели гемодинамики, реологии крови.

Keywords: acute nitrite poisoning, microcirculatory bed, hemodynamic, blood rheology characteristics.

Целый ряд причин, среди которых на первом месте стоит загрязнение продуктов питания из-за использования нитросодержащих удобрений в сельском хозяйстве, применение нитритов и нитратов в качестве кормовых добавок, консервантов и лекарственных средств способствуют нитрат-нитритным

интоксикациям, которые поражают почти все органы и ткани человека и животных [1, 4, 8, 9]. Одними из основных проявлений являются метгемоглобинемия и гемическая гипоксия, влекущие за собой многообразие изменений в органах и тканях [3, 6, 8]. Гемическая гипоксия и метаболический ацидоз являются

действенным стрессовым фактором, обуславливающим вместе с эффектом вазодилатации кровоизлияния и нарушение функции почек [3, 4, 6, 8, 9].

Острые отравления нитритом натрия приводят к острой гемической гипоксии, гипердинамическому состоянию кровообращения, обеспечивающего компенсаторное, небольшое увеличение доставки кислорода тканям [8]. Однако при тяжелой степени гемической гипоксии, указанные механизмы компенсации неэффективны и способствуют развитию необратимых нарушений в органах и тканях, нередко со смертельным исходом. В этой связи представляют интерес системные нарушения микроциркуляции, гемодинамики и реологии крови, которые остаются недостаточно изученными.

Целью исследования явилась морфо-функциональная оценка состояния микроциркуляторного русла и показателей гемодинамики, реологии крови при острых (LD_{50}) пероральных отравлениях нитритом натрия.

Материал и методы исследования

Работа выполнена на материале, полученном от 60 половозрелых белых беспородных крыс обоего пола, массой 180-200 г, распределенных на 2 группы экспериментов:

I – интактная группа – 15 (контроль)

II – модель острого (LD_{50}) отравления нитритом натрия – 45 (опыт).

Воспроизведение модели острого отравления нитритами достигалось по известной методике [1], путем перорального введения в желудок предварительно наркотизированным (внутримышечно кетамин из расчета 25 мг/г массы тела) животным нитрита натрия в дозе LD_{50} (50 мг/г массы тела, т. е. в среднем 10 мг на 1 крысу).

Наблюдения за животными с оценкой показателей гемодинамики, реологии крови и микроциркуляции проводили через 30, 90 и 180 мин. после пероральной заправки их нитритом натрия. На указанных сроках наркотизированным животным проводилось измерение скорости капиллярного кровотока (СКК) с

помощью анализатора лазерной доплеровской флоуметрии «ЛАКК-01» (Россия), затем животные забивались путем декапитации, кровь собиралась для определения объема циркулирующей крови (ОЦК), вязкости крови (ВК), внеэритроцитарного гемоглобина (ВНв) и индекса деформируемости эритроцитов (ИДЭ). Определение Ht проводилось на гематокритной центрифуге «Красногвардеец» (Россия); измерение ВК проводилось с помощью водно-капиллярного вискозиметра «ВК-4» (Россия); ИДЭ определялся по методике [1, 2]; ОЦК определялся красочным методом по разведению синего Эванса [7] с последующим расчетом плазменного (ПО) и глобулярного (ГО) объемов; определение концентрации свободного (внеэритроцитарного гемоглобина ВНв) проводилось на фотоэлектрокалориметре «КФК-4» (Россия). Объектами морфологических исследований являлись кровеносные и лимфатические микрососуды микроциркуляторного русла тотальных пленочных препаратов твердой оболочки головного мозга (ТОГМ), фиброзной капсулы почки (ФКП), брыжейки тонкой кишки (БТК) и мышечной части диафрагмы (МЧД), которые фиксировались в 12% формалине с последующей импрегнацией серебром [5] и окраской гематоксилин-эозином. Проводился морфометрический анализ диаметра всех звеньев микроциркуляторного русла по импрегнированным препаратам. Для измерения диаметра использовался винтовой окуляр – микрометр «МОВ-15» (Россия) при ув. Ч135. В каждом объекте исследования проводилось по 50 измерений диаметра всех звеньев микроциркуляторного русла, которые в последующем распределялись на условные классы (I класс – мелкие; II класс – крупные), определялся их процент в вариационном ряду [7]. Микрофотосъемка гистопрепаратов проводилась на микроскопе «Wilomed» (Германия), сопряженным с видеокамерой и компьютером. Все количественные результаты распределялись на выборки и

подвергались статистической обработке, используя пакет прикладных программ Statistika фирмы Statsolt Inc. (2001), Version 6.0.

Результаты и их обсуждение

Анализ импрегнированных гистопрепаратов в интактной группе экспериментов выявил в ФКП и БТК модульное расположение основных микроциркуляторных блоков, включающих в себя как кровеносные, так и лимфатические звенья. Как и в серозных оболочках, микроциркуляторное русло ФКП, ТОГМ и МЧД представлено однослойной сосудистой сетью. Артериолы характеризовались прямолинейным, волнистым ходом с ровными, четкими контурами. Ядра их гладкомышечных клеток преимущественно располагались в один ряд. Прекапиллярные артериолы

ответвлялись от артериол чаще под прямым углом. В их устьевых отделах обнаруживались сфинктеры. Капилляры изученных объектов формировали широкопетлистую сеть с ячейками округлой формы. Капилляры, сливаясь, формировали посткапиллярные вены, которые, в свою очередь, формировали вены. Последние имели преимущественно волнистый ход и часто сопровождали артериолы. На импрегнированных препаратах ФКП, БТК и МЧД, помимо гемомикроциркуляторного русла, выявлялись фрагменты лимфатических сосудов. Результаты морфометрии диаметров микрососудов изученных объектов и их распределения на морфометрические классы представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Средние величины диаметра звеньев МЦР изученных объектов в динамике острого (LD₅₀) отравления нитритом натрия (импрегнация серебром; в мкм; M±m; n=50; P≤0,05)

Сроки набл.	Звенья МЦР					
	Объект иссл.	А	Па	К	Пв	В
Интактные животные	ТОГМ	19,2±0,2	8,8±0,1	7,4±0,3	13,5±0,3	36,9±0,2
	ФКП	22,2±0,4	13,7±0,2	7,7±0,3	18,9±0,3	35,0±0,5
	БТК	15,2±0,1	9,6±0,2	7,9±0,2	12,2±0,3	29,9±0,3
	МЧД	21,5±0,2	14,7±0,2	7,2±0,2	23,5±0,2	32,0±0,6
Через 30 мин.	ТОГМ	20,8±0,2	9,5±0,2	8,9±0,2	14,3±0,2	38,9±0,3
	ФКП	23,8±0,1	15,0±0,1	8,5±0,1	19,8±0,1	40,2±0,2
	БТК	15,9±0,4	9,9±0,1	8,9±0,2	15,5±0,2	39,6±0,1
	МЧД	23,3±0,2	15,1±0,2	8,7±0,1	26,9±0,3	38,7±0,4
Через 90 мин.	ТОГМ	27,0±0,1	10,7±0,3	9,9±0,1	25,5±0,3	42,6±0,3
	ФКП	29,2±0,2	18,2±0,1	10,1±0,3	30,3±0,1	48,3±0,4
	БТК	22,0±0,3	12,8±0,1	11,3±0,2	29,8±0,2	38,9±0,4
	МЧД	29,8±0,2	18,5±0,2	10,2±0,3	32,3±0,3	43,5±0,3
Через 180 мин.	ТОГМ	26±0,2	10,6±0,3	9,0±0,2	27,3±0,2	43,3±0,4
	ФКП	23,7±0,3	15,0±0,1	8,2±0,1	33,1±0,1	44,5±0,4
	БТК	20,5±0,2	11,2±0,2	9,0±0,1	27,5±0,1	40,5±0,2
	МЧД	28,0±0,1	16,9±0,1	9,5±0,2	28,7±0,3	42,8±0,3

Примечание: ТОГМ – твердая оболочка головного мозга, ФКП – фиброзная капсула почки, БТК – брыжейка тонкой кишки, МЧД – мышечная часть диафрагмы

Таблица 2

Распределение доли морфометрических классов основных групп микрососудов исследованных объектов в динамике острой интоксикации нитритом натрия (в %; n=50)

Звенья МЦР		Объект иссл.			А			Па			К			Пв			В		
Классы		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3			
Интактные	ТОГМ	67	33	–	85	15	–	65	35	–	73	27	–	79	21	–			
	ФКП	55	45	–	64	36	–	43	57	–	34	66	–	22	78	–			

	БТК	75	25	–	71	29	–	40	60	–	83	17	–	70	30	–
	МЧД	61	39	–	56	44	–	73	27	–	77	23	–	55	45	–
Через 30 мин.	ТОГМ	15	75	10	19	70	11	24	71	5	26	65	9	42	52	6
	ФКП	35	57	8	25	70	5	37	56	7	39	56	5	63	33	4
	БТК	54	43	3	27	64	9	48	48	4	20	73	7	30	61	9
	МЧД	22	63	15	29	59	12	13	77	10	25	71	4	43	49	8
Через 90 мин.	ТОГМ	12	63	25	13	70	17	16	73	11	26	65	9	42	52	6
	ФКП	25	56	19	20	69	11	30	61	9	39	56	5	63	33	4
	БТК	12	61	27	24	57	19	26	62	12	20	73	7	30	61	9
	МЧД	32	50	18	27	57	15	5	80	15	25	71	4	43	49	8
Через 180 мин.	ТОГМ	42	38	20	46	46	8	43	50	7	30	58	12	53	70	4
	ФКП	26	62	12	40	51	9	28	62	10	39	44	17	35	62	3
	БТК	17	65	18	44	48	8	19	69	12	19	62	19	52	41	7
	МЧД	28	59	13	37	56	7	12	73	15	14	35	51	43	54	3

Основные характеристики исследованных показателей гемодинамики и реологии крови интактных крыс на этапах

воспроизведения острого перорального отравления нитритом натрия представлены в таблице 3.

Таблица 3

Изменение показателей гемодинамики и реологии крови у крыс в динамике моделирования острого (LD₅₀) отравления нитритом натрия (M±m; n=30; P≤0,5)

Исслед. показатели	Сроки наблюд.	Интактные животные (контроль)	Через 30 мин.	Через 90 мин.	Через 180 мин.
ВК в мм.вод.ст.		4,13±0,3	6,70±0,02	7,3±0,02	8,8±0,03
ОЦК в мл		18,0±0,2	12,1±0,3	11,8±0,4	10,3±0,1
ПО в мл		9,7±0,1	7,7±0,2	5,6±0,3	4,4±0,2
ГО в мл.		8,3±0,2	6,4±0,4	6,2±0,2	5,9±0,1
Ht в %		47,0±0,6	69,0±0,7	67,3±0,3	65,0±0,5
СКК в усл.ед.		18,3±0,3	10,7±0,5	9,3±0,4	8,9±0,3
ВНв в мкмоль/л		2,80±0,2	4,89±0,35	5,25±0,35	6,82±0,23
ИДЭ в усл.ед.		0,344±0,005	0,150±0,002	0,120±0,003	0,100±0,01

Примечание: ВК – вязкость крови, ОЦК – объем циркулирующей крови, ПО – плазменный объем, ГО – глобулярный объем, СКК – скорость капиллярного кровотока, Ht – гематокрит, ВНв – внеэритроцитарный гемоглобин, ИДЭ – индекс деформируемости эритроцитов

Через 30 минут после отравления нитритом натрия анализ импрегнированных гистопрепаратов показал изменения однонаправленного характера, в разной степени выраженные в изученных объектах, признаки перестройки микроциркуляторного русла, которые главным образом касались функциональной архитектоники сосудистых звеньев, оказывали влияние на геометрию капиллярных сетей и структуру стенок сосудов. Наблюдалась вазодилатация, повышенная извилистость артериол и прекапилляров во всех исследованных объектах со снижением ритма их вазомоторных осцилляций. Морфометрия показала максимальную (по сравнению с интактной группой) вазодилатацию артериол в МЧД (на 8% P≤0,05), а прекапилляров в ФКП (на 9,4% P≤0,05), что подтверждается и при распределении их на морфометрические классы (табл. 1 и 2). Общими признаками

изменений капилляров всех изученных объектов являлось увеличение диаметра магистральных сосудов на фоне стаза, агрегации форменных элементов крови в сетевых сосудах. Морфометрия показала максимальную степень увеличения диаметра капилляров (по сравнению с интактными значениями) в МЧД – на 20,8% и в ТОГМ – на 20,1% (P≤0,05). Посткапилляры и венулы характеризовались полнокровием и повышенной извилистостью. Морфометрия их диаметра показала тенденцию к увеличению их калибра по всем объектам исследования. Наибольшие значения по сравнению с интактными показателями выявлены в БТК, где диаметр посткапилляров увеличивался на 27%, а венул на 32% (табл. 1). Анализ морфометрических классов посткапилляров и венул показал их перекалибровку в сторону роста доли крупных сосудов 2-го класса (табл. 2), максимальное количество (61% выборки)

которых обнаружено в БТК. В ряде случаев нам удалось зарегистрировать изменения лимфатических звеньев микроциркуляторного русла в виде расширения их диаметра, деформации контуров стенки с появлением боковых «выбуханий».

Через 30 минут после острого отравления нитритом натрия, вышеизложенные морфологические изменения микроциркуляторного русла сопровождались изменением показателей гемодинамики и реологии крови (табл. 3). Так, ОЦК снижался на 35%, ПО – на 26%, а ГО – на 22,8% (по сравнению с интактной группой; $P \leq 0,05$). ВК и Нт возрастали на 35% и 47% соответственно (по сравнению с интактной группой; $P \leq 0,05$). Снижалась СКК на 41,5% ($P \leq 0,05$). Ухудшение реологических свойств крови подтверждалась и снижением на 56,3% (по сравнению с контролем) такого важного показателя, как ИДЭ.

Анализ микропрепаратов через 90 минут после острой нитритной интоксикации выявил как дальнейшее прогрессирование описанных выше морфологических изменений, так и появление новых феноменов патологической перестройки микроциркуляторного русла исследованных объектов. Во всех объектах выявлялась значительная деформация рисунка микрососудистых сетей с нарастанием извилистости и других признаков их атипического хода, с нарушением плотности, равномерности их распределения в поле зрения. Обращало на себя внимание усиление аргирофилии клеточных элементов и волокнистых структур стенок микрососудов. Общим признаком изменения кровеносного русла в условиях нарастающей нитритной интоксикации было дальнейшее увеличение диаметра микрососудов (табл. 1) во всех исследованных объектах. Показательно совпадение объекта с максимальным увеличением диаметра артериол и прекапилляров, т.е. БТК, где их калибр достоверно возрастал на 30-45% (по сравнению с интактными значениями; $P \leq 0,05$).

Распределение микрососудов на морфометрические классы выявило наибольшее количество атипически крупных прекапилляров 3-го класса в

БТК, (19% от общей выборки) (табл. 2). Через 90 минут после нитритной интоксикации в БТК, ФКП и ТОГМ вокруг полнокровных и извилистых капилляров обнаруживались признаки паравазального отека и клеточной инфильтрации. В просвете отдельных капилляров выявлялись признаки стаза, агрегации крови. Во всех исследованных объектах на фоне редуцированной перестройки капиллярных сетей отчетливо выступали полнокровные пути юстакпиллярного кровотока с паравазальными геморрагиями. В посткапиллярах и венулах нарастание полнокровия, извилистости сопровождалось деформацией, аргирофилией их стенок. Указанные изменения более выраженными были в ФКП и МЧД. Во многих мелких венулах определялись признаки стаза, агрегации форменных элементов крови.

Морфометрия диаметра посткапилляров и венул показала дальнейшее его увеличение по всем объектам, максимально выраженное в ФКП, где диаметр венул по сравнению с интактными возрос на 38% ($P \leq 0,05$). Распределение посткапилляров и венул по морфометрическим классам также подтвердило дальнейшее нарастание доли крупных сосудов с параллельным снижением процента мелких (табл. 2). В БТК, ФКП и МЧД выявлялись расширенные и деформированные звенья лимфатического русла, содержащие эритроциты.

Оценка показателей гемодинамики и реологии крови у крыс через 90 минут после отравления показала дальнейшее их ухудшение (табл. 3). Так, через 90 минут после нитритной интоксикации ПО снижается в 2 раза, ГО на 32% (по сравнению с интактными значениями; $P \leq 0,05$). Такие показатели, как ВК, Нт и СКК достигали максимума ухудшения.

Через 180 минут после острого отравления нарушения микроциркуляции характеризовались дальнейшим нарастанием однонаправленных сосудистых, внутри- и внесосудистых изменений, описанных выше с параллельным ухудшением показателей гемодинамики и реологии крови (табл. 1-3).

Выводы

Таким образом, результаты морфологического изучения состояния микроциркуляторного русла ТОГМ,

ФКП, БТК и МЧД при острой (LD₅₀) пероральной интоксикации нитритом натрия свидетельствуют о прогрессирующих через 30-90-180 минут признаках патологической перестройки их кровеносных и лимфатических звеньев. Изменения микроциркуляторного русла во всех объектах имеют однонаправленный характер в виде: вазодилатации, деформации, повышенной извилистости контуров микрососудов с нарушением их характерной ангиоархитектоники, выраженные в БТК, ФКП и ТОГМ. На высоте интоксикации (через 90-180 минут) в просвете капилляров и посткапиллярных венул в БТК, ФКП и ТОГМ обнаруживаются признаки стаза, агрегации форменных элементов крови с диффузными периваскулярными

геморрагиями. В лимфатическом русле, наряду с вазодилатацией, деформацией контуров, в просвете обнаруживаются эритроциты, что позволяет судить о степени повышения проницаемости гематолимфатического барьера. Морфологические изменения микроциркуляторного русла сопровождаются прогрессирующим через 30-90-180 минут ухудшением показателей гемодинамики и реологии крови с существенным снижением ОЦК, СКК, ИДЭ и возрастанием ВК, Нт. Полученные данные могут быть полезными при расшифровке патогенетических механизмов, острых нитритных интоксикаций организма и учтены при подборе методов детоксикационной терапии.

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. Гоженко А. И., Федорук А. С., Котюжинская С. Г., Гоженко В. А., Кузьменко И. А. Изменения функции почек при острой интоксикации нитритом натрия в эксперименте // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2003. № 1. С. 28-30.
4. Дерягина В. П., Реутов В. П. Экологические аспекты патофизиологии, связанные с нитратно-нитритным загрязнением окружающей среды // Мат-лы I Российского конгресса по патофизиологии. М., 1996. С. 239.
5. Куприянов В. В. Пути микроциркуляции. Кишинев: Картя молдовеняскэ, 1969.
6. Ляпков Б. Г., Ткачук Е. Н. Тканевая гипоксия: клинико-биологические аспекты // Гигиена и санитария. 1995. № 1. С. 2-8.
7. Османова А. А. Динамика микроциркуляторного русла фиброзных мембран при компрессионной травме мягких тканей конечностей и коррекции инфузией перфторана: Автореф. дисс... канд. мед. наук. Волгоград, 2010. 21 с.
8. Середенко М. М., Дударев В. П., Лаповенко И. М. Механизмы развития и компенсации гемической гипоксии. Киев, 1997. С. 180.
9. Kanapatskaja Y. A., Zyrianova T. N., Lavrova V. M. Indicators of lipid peroxydation in rat liver mitochondria after exposing them to some xenobiotics and low dose radiation // Ukr. Biochem. Zn. 1998. № 6. P. 113-119.

Статья поступила в редакцию 10.05.2012 г.