

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСУДОВ В ЗОНЕ ПЕРЕЛОМА ДЛИННОЙ ТРУБЧАТОЙ КОСТИ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ (ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

В.Ю. Мажугин^{1,3}, К.М. Кураян², Д.П. Березовский^{1,3}

¹Ростовский государственный медицинский университет

²Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону

³Бюро судебно-медицинской экспертизы Ростовской области

Частота возникновения тромбоза глубоких вен нижних конечностей (ТГВНК) составляет 100 случаев на 100 000 населения в год, при этом тромбоэмболические осложнения занимают третье место среди сосудистых заболеваний после ишемической болезни сердца (ИБС) и инсульта [8]. В общей структуре смертности госпитальных пациентов тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) составляет от 7,2% до 10%. Каждый год регистрируется 170 000 новых и 90 000 повторных эпизодов тромбозов и тромбоэмболии [6]. ТГВНК и ТЭЛА являются причиной 250 000 госпитализаций в США ежегодно [9]. По данным И.Н. Бокарева и соавт. [2], не более, чем у одного из каждых пяти больных, погибших от ТЭЛА, имелись клинические признаки ТГВНК, и лишь 10% нефатальных венозных тромбозов могли быть диагностированы при жизни пациента. Таким образом, в большинстве случаев, когда ТЭЛА является непосредственной причиной смерти, предшествовавший тромбоз не диагностировался ни клинически, ни лабораторно, ни с помощью инструментальных методов исследования и оказывался находкой на аутопсии [3].

Известно, что ТГВНК и ТЭЛА занимают важнейшее место в структуре послеоперационных осложнений и смертности в лечебных учреждениях хирургического профиля, в частности, у пациентов с травмой опорно-двигательного аппарата при оперативных методах лечения.

К сожалению, в настоящее время методы прогнозирования вероятности возникновения тромботических осложнений не являются совершенными. В последние десятилетия обсуждается вопрос о роли повышенной концентрации гомоцистеина как самостоятельного (независимого) фактора повышенного тромбообразования.

Данная тема является актуальной и для судебно-медицинских экспертов. Наличие ТГВНК и ТЭЛА

ставит задачу перед экспертом – результатом чего явилось данное осложнение: травмы, выполненного оперативного вмешательства или это самостоятельное протекающее заболевание. Решение поставленной задачи существенным образом влияет на квалификацию причиненных повреждений. Ответ на поставленный вопрос может быть дан исключительно при комплексном подходе с учетом морфологической картины тканей в зоне повреждения и на удалении.

Целью настоящего исследования явилась оценка морфологических и морфометрических показателей сосудов в зоне перелома на экспериментальной модели животных с метиониновой диетой, способствующей повышенному содержанию гомоцистеина в крови.

Материал и методы. В качестве лабораторных животных для эксперимента были выбраны беспородные крысы (самцы) массой 250–300 г. Животные содержались в стандартных клетках в условиях 12-часового режима освещения и свободного доступа к корму и воде. Содержание животных соответствовало санитарным правилам, утвержденным МЗ СССР 06.07.73 г. Кормили животных натуральными и брикетированными кормами в соответствии с нормами, утвержденными приказом МЗ СССР №755. Перед экспериментами животные проходили карантин и акклиматизацию в условиях вивария в течение 14 дней.

Животные были рандомизированы в одну из четырех групп: 1 группа – контрольная (интактные животные) (int). 2 группа – животные, которым ежедневно вводили внутривенно зонда метионин в концентрации 24,6 г/кг [13] в течение четырех недель, что, по данным литературы, способствовало увеличению концентрации гомоцистеина в плазме до уровня 240–334 $\mu\text{mol/L}$ (Hhcy). 3 группа – животные, которым не вводили внутривенно зонда метионин, однако спустя две недели от момента начала эксперимента был сформирован закрытый перелом костей голени. Перелом формировали при помощи специально сконструированного устройства, позволяющего дозированно воздействовать на конечность животного (traum). 4 группа – животные, которым в течение первых двух недель внутривенно вводили метионин, затем формировали закрытый перелом костей голени (Hhcy traum) и еще в течение двух недель внутривенно вводили метионин.

В ходе эксперимента осуществляли еженедельный контроль массы лабораторных животных. По окончании срока эксперимента животных декапитировали под эфирным наркозом. Для гистологического ис-

Мажугин Владимир Юрьевич, ассистент кафедры судебной медицины с курсом правоведения Ростовского государственного медицинского университета, врач-эксперт гистологического отделения Бюро судебно-медицинской экспертизы Ростовской области, тел.: (863)2632391, 2504104, 89604623623; e-mail: mazhugin-vladimir@yandex.ru.

Куроян Кристина Макаровна, старший лаборант кафедры биохимии и микробиологии биолого-почвенного факультета Южного федерального университета, тел.: (863)2184034, 89287769714; e-mail: kristi-rostov@mail.ru.

Березовский Дмитрий Павлович, кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой судебной медицины с курсом правоведения Ростовского государственного медицинского университета, тел.: (863)2632391, (863)2504104, 89185399008; e-mail: dpb@mail.ru.

следования изымали мягкие ткани из зоны сформированного перелома, а также интактной конечности, фиксировали в 10% нейтральном формалине в соотношении ткань/формалин 1:10. Окраску препаратов проводили гематоксилин-эозином. Микроскопию из готовленных препаратов осуществляли с использованием микроскопа МИКМЕД 6 с тринокулярной насадкой с использованием окуляр-микрометра МОВ-1-16. При микроскопии полученных срезов оценивались: 1) диаметр поперечнополосатого скелетного миоцита, его минимальное значение (ДППМ min) (мкм); 2) диаметр поперечнополосатого скелетного миоцита, его максимальное значение (ДППМ max) (мкм); 3) диаметр ядра миоцита (ДЯМ) (мкм); 4) диаметр капилляра (ДК) (мкм); 5) толщина стенки капилляра (ТСК) (мкм); 6) толщина эндотелиальной выстилки капилляра (ТЭК) (мкм); 7) диаметр вены малого калибра (ДВ) (мкм); 8) толщина стенки вены (ТСВ) (мкм); 9) толщина эндотелиальной выстилки вены (ТЭВ) (мкм); 10) диаметр артерии малого калибра (ДА) (мкм); 11) толщина стенки артерии (ТСА) (мкм); 12) толщина эндотелиального слоя артерии (ТЭА) (мкм); 13) визуальное наличие или отсутствие тромбов в исследуемом материале (+/-).

Морфометрическое исследование вышеперечисленных показателей во всех экспериментальных группах осуществлялось как на травмированной, так и на интактной конечности.

Полученные результаты обрабатывались при помощи MS Excel с вычислением среднего значения, ошибки среднего, критерия Стьюдента.

Результаты. Во всех группах изменения средней массы тела были однотипными, без статистически значимых различий.

Морфометрические показатели для контрольной группы интактной конечности и конечности со сформированным переломом показаны в таблице.

В III (traum) экспериментальной группе толщина эндотелиальных клеток по сравнению с контрольной группой (I) была увеличена в капилляре, вене и артерии на 1,82%, 13,35% и 6,88% соответственно. Что касается диаметра данных сосудов, то в капиллярах и венах отмечали увеличение диаметра на 4,52% и 17,17%, тогда как диаметр артерии был уменьшен на 12,8% по отношению к контрольной группе. Такая же тенденция, но с другими значениями получена во II (Hhcy) опытной группе: толщина эндотелиальных клеток, по сравнению с интактной конечностью контрольной группы, была увеличена (в капилляре, вене, артерии) на 3,43%, 48,52%, 4,98% соответственно. Диаметр капилляра был увеличен на 45,82%, диаметр вены на – 11,90%, а диаметр артерии был уменьшен на 14,32%. В IV опытной группе (Hhcy traum) толщина эндотелия была увеличена на 11,56%, 73,47%, 38,78%. Диаметр капилляров и вен был увеличен на 37,79% и 5,69% соответственно, а в артериях был уменьшен на 2,85% (рис. 1, 2).

В контрольной группе интактной конечности тромбов в просвете сосудов не наблюдалось. В группе с наличием перелома без введения метионина тромб отмечался с частотой 1:11, в группе с метионином без формирования перелома – с частотой 1:11, а в группе с переломом и метиониновой диетой – 3:10.

Обсуждение. В последние годы появились данные о гомоцистеине как независимом модифицируемом факторе риска тромбоокклюзивных заболеваний [4,5,12]. Хотя значение гипергомоцистеинемии (ГГЦ) в возникновении и прогрессировании тромбоза сосудов различной локализации давно обсуждается, в отечественных источниках отсутствуют конкретные сведения о морфологических изменениях в сосудистой стенке при травме опорно-двигательного аппарата в условиях ГГЦ.

Таблица

Морфометрические показатели стенки сосуда в экспериментальных группах

Исследуемый показатель	I int	II Hhcy	III traum	IV Hhcy+traum
Диаметр мышечного волокна (мин.)	17,25±0,39	19,92±0,68*	16,45±0,28	18,27±0,27*
Диаметр мышечного волокна (макс.)	34,4±0,63	35,59±1,42	26,31±0,52*	38,7±1,17*
Диаметр ядра миоцита	3,975±0,2	5,12±0,11*	4,02±0,07	4,46±0,1392
Диаметр капилляра	9,95±0,45	14,51±0,88*	10,4±0,34	13,71±0,80*
Толщина стенки капилляра	3,35±0,28	4,7±0,235*	3,88±0,07	3,08±0,08
Толщина эндотелия капилляра	2,25±0,03	2,33±0,10	2,29±0,02	2,51±0,04
Диаметр вены	30,4±1,26	34±2,72	35,62±1,64*	32,1±0,7
Толщина стенки вены	4,3±0,17	8,85±0,63*	6,22±0,45*	7,5±0,1*
Толщина эндотелия вены	2,375±0,03	3,53±0,24*	2,69±0,16	4,1±0,1*
Диаметр артерии	25,25±0,75	21,6±1,16*	22,2±1,43	25±0,7
Толщина стенки артерии	8,675±0,12	7,45±0,48*	6,39±0,35*	6,17±0,22*
Толщина эндотелия артерии	2,9±0,05	3,02±0,23	3,07±0,14	6,2±0,2*

* – $p < 0,05$ в сравнении с интактными животными (контролем).

Предложенная экспериментальная модель была основана на использовании метиониновой диеты с целью увеличения концентрации гомоцистеина в крови лабораторного животного [7]. Такая диета при внутрижелудочном введении метионина в концентрации 1 г/кг приводит к увеличению содержания гомоцистеина в крови животного до $106,19 \pm 19,75$ мкмоль/л [7]. Мы вводили животным в 24,6 раза большую концентрацию одномоментно ежедневно в течение всего эксперимента, что предполагает более высокую концентрацию гомоцистеина в крови. Литературные данные свидетельствуют о том, что в условиях ГГЦ происходит уменьшение диаметра сосудов за счет продукции и накопления коллагена в адвентиции сосудов [10]. В нашем эксперименте наблюдалось уменьшение диаметра лишь в артериях, что, вероятно, предполагает иной вариант воздействия гомоцистеина на стенку сосуда. Полученная информация о размерах эндотелия согласуется с литературными данными об усилении процессов гиперплазии неоинтимы после повреждения сосуда [1], однако, по

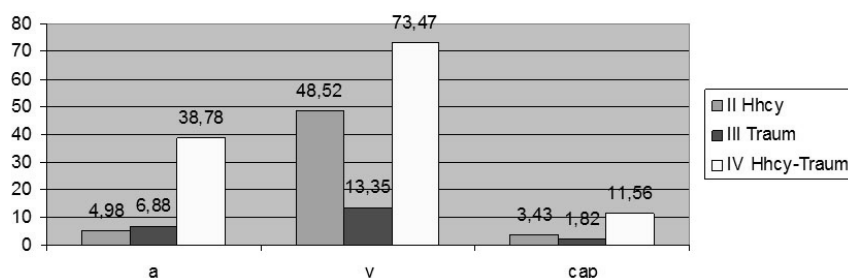


Рис. 1. Толщина эндотелия в сосудах экспериментальных животных по сравнению с контрольной группой (в %)

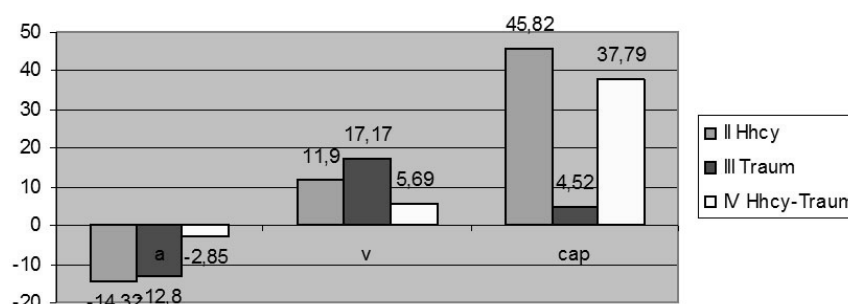


Рис. 2. Диаметр сосудов в экспериментальных группах по отношению к контролю (в %)

нашим данным, наибольшие изменения наблюдались в венах, в то время как в капиллярах и артериях были незначительными. В случае тупой травмы также отмечена наибольшая степень гипертрофии эндотелия в венах, однако в артериях и капиллярах гипертрофия была также значимой в случае тупой травмы с гипергомоцистеинемией. Что касается сведений о том, что ГГЦ ведет к увеличению риска развития венозных тромбозов [1,4,5,11,12], то действительно в интактной конечности у экспериментальных животных частота возникновения венозного тромбоза оценивалась с вероятностью 1:11 и была равной частоте тромбозов при травме конечности экспериментального животного, содержавшегося на обычной (безметиониновой) диете. Сочетание же факторов тупой травмы и повышенного уровня гомоцистеина приводило к риску возникновения тромбоза с частотой 3:10.

Применительно к проблемам судебной медицины такие результаты могут свидетельствовать о том, что в двух из 10 случаев фатальных тромботических осложнений при травме можно говорить о прямой причинной связи, а в 1 случае из десяти причина может заключаться в предшествовавшем токсическом воздействии гомоцистеина на эндотелий вен, что требует критериев разграничения прямого воздействия травмы и токсического влияния гомоцистеина.

Заключение. Результаты пилотного исследования на лабораторных животных позволяют предполагать, что морфометрическими критериями дифференциальной диагностики тромбоза, возникшего вследствие травмы или длительного повышенного уровня ГЦ в крови, могут быть значительное увеличение толщины эндотелия в венах травмированной конечности, по сравнению с противоположной, симметрично расположенной стороной, при незначительном увеличении толщины эндотелиального слоя в капиллярах и артериях, сочетающемся с увеличением диаметра в венах и капиллярах, и уменьшение диаметра артерий.

Литература

1. Баранова, Е.И. Клиническое значение гомоцистеинемии [Электронный ресурс] (обзор литературы) Инфекции и антимикробная терапия; / Е. И. Баранова, О.О. Большакова – Электронные данные // Т. 3/№ 6/2001 Режим доступа: <http://consilium-medicum.com/article/11221>).
2. Бокарев, И.Н. Тромбозы и противотромботическая терапия в клинической практике / И.Н. Бокарев, Л.В. Попова, Т.В. Козлова. – М.: Медицинское информационное агентство, 2009. – 512 с.
3. Профилактика тромбоэмболических осложнений у больных хирургического профиля / Под ред. д.м.н., профессора, член – корр. РАМН А.Г. Румянцев. – М, 2006. – С. 2.
4. Костюченко, Г. И. Гипергомоцистеинемия и коронарная болезнь сердца как проблема пожилого возраста / Г. И. Костюченко, З. С. Баркаган // М.: Клиническая геронтология. – 2003. – Т. 9, №5. – С. 48.
5. Фетисова, И.Н. Полиморфизм генов фолатного обмена и болезни человека / И.Н. Фетисова // Вестник Ивановской медицинской академии, 2006. – Т.11, №1-2. – С. 77-83.
6. Anderson, F.A. Jr. The A population-based perspective of the hospital incidence and case-fatality rates of deep vein thrombosis and pulmonary embolism / F.A.Jr. Anderson, H.B. Wheeler, R.J. Goldberg [et al.] // The Worcester DVT Study. Arch Intern Med. – 1991. – Vol.151, №5. – P. 933-938.
7. Chen, F.Y. Effect of hyperhomocysteinemia on cardiac remodeling in rats / F.Y. Chen, Y.H. Guo, W. Gao [et al.] // Beijing Da Xue Xue Bao. – 2006. –Vol.38, №2. – P. 179-183.
8. Dahlback, B. Factor V gene mutation causing inherited resistance to activated protein C as a basis for venous thromboembolism / B. Dahlback // J. Int. Med. – 1995. – Vol.237. – P. 221-227.
9. Futterman, L. A Silent Killer -Often Preventable. Amer. / L. Futterman, L. Lemberg // J. Critical Care. – 2004. – Vol.13, №5. – P. 431-436.
10. Guo, Y. Diet-induced hyperhomocysteinemia exacerbates vascular reverse remodeling of balloon-injured arteries in rat / Y. Guo, F. Chen, G. Wang [et al.] // Chinese Medical Journal. – 2008. – Vol.121, №22.
11. Hainaut, P. Hyperhomocysteinemia and venous thromboembolism: a risk factor more prevalent in the elderly and in idiopathic cases / P. Hainaut, C. Jau-motte, D. Verhelst [et al.] // Thromb Res. – 2002. – Vol.106, №2. – P. 121-125.
12. Spiroski1, I. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR-677 and MTHFR-1298) genotypes and haplotypes and plasma homocysteine levels in patients with occlusive artery disease and deep venous thrombosis / I. Spiroski1, S. Kedev, S. Antov [et al.] // Acta biochimica Polonica. –2008. –Vol.55, №3. – P. 587-594.
13. Dayal, S. Models of Hyperhomocysteinemia and Their Vascular Phenotypes Arterioscler / S. Dayal, S.R.L. Murine // Thromb Vasc. Biol. – 2008. – Vol. 28. – P. 1596-1605.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСУДОВ В ЗОНЕ ПЕРЕЛОМА ДЛИННОЙ ТРУБЧАТОЙ КОСТИ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ (ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

В. Ю. МАЖУГИН, К. М. КУРАЯН,
Д. П. БЕРЕЗОВСКИЙ

Проведена оценка морфологических и морфометрических показателей сосудов в зоне перелома на экспериментальной модели животных с метиониновой диетой, способствующей повышенному содержанию гомоцистеина (ГЦ) в крови. Эксперимент выполнен на беспородистых белых крысах – самцах с последующим изучением морфологии и морфометрических показателей стенки артерии малого калибра, капилляра и вены в зоне сформированного перелома. Полученные результаты свидетельствуют о том, что морфометрическими критериями дифференциальной диагностики тромбоза, возникшего вследствие травмы от длительного повышенного уровня ГЦ в крови, могут быть значительное увеличение толщины эндотелия в венах травмированной конечности по сравнению с противоположной симметрично расположенной стороной при незначительном увеличении толщины эндотелиального слоя в капиллярах и артериях в сочетании с увеличенным диаметром в венах и капиллярах и уменьшение диаметра артерий.

Ключевые слова: тромбоз, гипергомоцистеинемия, морфометрия

MORPHOMETRIC PARAMETERS OF VESSELS IN FRACTURE AREA OF THE LONG CORTICAL BONE IN HYPERHOMOCYSTEINEMIA MODEL (PILOT PROJECT)

MAZHUGIN V. Yu., KURAJAN K. M.,
BEREZOVSKY D. P.

Assessment of morphological and morphometric parameters of artery, vein and capillary wall of a long cortical bone in the area of fracture on the experimental model of hyperhomocysteinemia (HHcy) has been performed. The obtained results suppose the following morphometric criteria of differential diagnosis of the thrombosis in consequence of the trauma in HHcy model: substantial growth of venous endothelium thickness and increase of veins diameter in the injured extremity in combination with slight increase of endothelial layer thickness in capillaries and arteries and reduction of artery diameter.

Key words: thrombosis, hyperhomocysteinemia, morphometry

© В. О. Францева, 2011
УДК 616 – 053.3/.4 – 007:577.95

ОСОБЕННОСТИ СОЦИАЛЬНО-ПСИХОЛОГИЧЕСКОГО И ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ ДЕТЕЙ РАННЕГО ПОДРОСТКОВОГО ВОЗРАСТА (11–13 ЛЕТ)

В. О. Францева

Ставропольская государственная медицинская академия

Ранный подростковый возраст относится к одному из самых важных и зачастую сложных периодов жизни человека. От того, насколько гармонизируются все жизненные процессы и взаимоотношения человека с внешней средой, во многом зависят становление личности, ее целевые ориентиры, выбор направления дальнейшего развития. Данный период характеризуется выраженной социализацией личности, ускоренным физическим развитием органов и систем организма, существенными изменениями интеллектуального и эмоционального развития, механизмами саморегулирования и формирования личности [3, 5]. На формировании личности отражается также влияние социально-экономических изменений в обществе [1, 2, 4, 6].

Целью исследования явилось установление особенностей развития детей раннего подросткового возраста.

Материал и методы. В работе были использованы статистический, социологический методы, анализ клинических данных и элементы психологического тестирования. Сбор информации осуществлялся в

учреждениях образования различного типа – в городах и сельской местности Ставропольского края. В качестве базовых учреждений были выбраны: ГСУО «Ставропольский социальный приют для детей и подростков», МОУ лицей № 5 (г. Ставрополь), МОУ СОШ № 34 (г. Ставрополь), Детский дом № 12 (Апанасенковский район), сельская школа с. Дивное (Ставропольский край). В исследуемую группу вошли школьники раннего подросткового возраста – 11–13 лет.

Результаты и обсуждение. По данным нашего исследования, уровень проблемности в целом по всей группе обследованных был в пределах 5,73 балла, что составило 28,6% от максимального. Более 50% подростков имели проблемы, связанные с физическими нагрузками, более 60% – в связи с перегрузками в процессе обучения. На боли различной локализации в процессе физических нагрузок жаловалось более 40,0% детей (табл. 1). Следует отметить, что высокая частота перегрузок была обусловлена неравномерным их распределением на школьников в течение дня.

Среди видов перегрузок наиболее часто отмечались таковые, связанные с обучением в школе, на что обратил внимание каждый пятый школьник.

Анализ физического состояния детей раннего подросткового возраста в зависимости от принадлежности к типу учреждения показал, что наибольшие проблемы с физическим состоянием имели городские школьники и

Францева Виктория Олеговна, кандидат медицинских наук, доцент, проректор по лечебной работе СтГМА, тел.: (8652)359463; e-mail: uzstav@mail.ru.