

УДК 616.71-018.46-005-003.219

ГЕМОМИКРОЦИРКУЛЯЦИЯ В КРАСНОМ КОСТНОМ МОЗГЕ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ СЕРОСОДЕРЖАЩЕГО ГАЗА

Лазько А.Е., Овсянникова О.А., Карпеева Д.В.

ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия Минздрава России», Астрахань, e-mail: radmila56@mail.ru

Проведено исследование микроциркуляции крови в красном костном мозге проксимального метафиза бедренной кости белых нелинейных крыс-самцов от 225 до 630 суток жизни, интактных и подвергшихся действию субтоксических доз ($90 \pm 4 \text{ мг/м}^3$) серосодержащего газа, методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с использованием ацетилхолиновой функциональной пробы. В качестве токсического агента был применен промышленный природный серосодержащий газ Астраханского газоконденсатного месторождения. Выявлено снижение интенсивности микроциркуляции крови в красном костном мозге у интактных крыс в онтогенезе, статистически достоверное в предстарческом периоде развития (630 суток) по сравнению с более молодыми. Токсическое воздействие резко снижает интенсивность микроциркуляции в костном мозге, что наиболее выражено у молодых животных (225 суток развития). У экспериментальных животных присутствовали отчетливые признаки развития дисфункции эндотелия, выражающиеся в более низкой интенсификации микроциркуляции в ответ на воздействие ацетилхолина на красный костный мозг по сравнению с контрольными животными. Реакция гемомикроциркуляции в красном костном мозге на ацетилхолиновую пробу положительна и является суперпозицией возраста и внешнего негативного воздействия.

Ключевые слова: гемомикроциркуляция, красный костный мозг, серосодержащий газ, эндотелиальная дисфункция

GEMOMICROCIRCULATION IN RED BONE MARROW UNDER THE EFFECT OF SULFUR-CONTAINING GAS

Lazko A.E., Ovsyannikova O.A., Karpeeva D.V.

Astrakhan State Medical Academy, Astrakhan, Russia e-mail: radmila56@mail.ru

The investigation of blood microcirculation in the bone marrow of proximal metaphysis of the femur of white non-linear male rats from 225 to 630 days of life, intact and exposed to subtoxic doses ($90 \pm 4 \text{ mg/m}^3$) of sulfur-containing gas by laser Doppler flowmetry (LDF) with acetylcholine functional test. As the toxic agent was applied industrial natural sulfur-containing gas of the Astrakhan gas-condensate field. Decrease in intensity of blood microcirculation in a red marrow at intact rats in ontogenesys, statistically authentic in the presenile period of development (630 days) in comparison with younger is revealed. Toxic effects dramatically reduces the intensity of the microcirculation in the bone marrow, which is most pronounced in young animals (225 days of development). In experimental animals were present clear signs of endothelial dysfunction, manifested in lower intensification of microcirculation in response to impact of acetylcholine on a red marrow compared with control animals. Blood microcirculation reaction in a red marrow on acetylcholine functional test is positive and is superposition of age and external negative impact.

Keywords: blood microcirculation, red bone marrow, sulfur-containing gas, endothelial dysfunction

Перед современной наукой остро стоит проблема предотвращения вредного влияния физических, химических факторов и их комбинаций на организм человека. В этом случае весьма важны нарушения в одной из наиболее реактивных систем организма – системе кроветворения и её главнейшем морфологическом субстрате – красном костном мозге [7].

По мнению крупнейших отечественных исследователей [6, 9], одним из главнейших морфофункциональных компарментов любого анатомического образования, в том числе и эритропоэтического, определяющих его гомеостаз и, как следствие, степень устойчивости к негативным воздействиям, является его система микроциркуляции. В настоящее время для оценки функции этой системы успешно используется лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) – один из наиболее перспективных методов,

дающих интегральную оценку характеру микроциркуляции [5].

В результате исследований стало очевидным, что эндотелий – это не просто внутренний слой клеток в сосудах, а это активная метаболическая система, которая функционирует как рецепторно-эффекторный орган, реагирующий на любой физический или химический раздражитель с выделением соответствующих веществ, с помощью которых он может поддерживать вазомоторный баланс и сосудистотканевый гомеостаз [1; 10]. Повреждение или чрезмерная активация эндотелия разрывает нормальные регуляторные связи и приводит к нарушению его функции, причем повреждения сосудистой стенки могут быть как структурными, так и функциональными, обусловленными нарушением клеточного метаболизма, истощением энергетических запасов, ингибированием

отдельных функциональных систем сосудистой стенки [3].

Характер микроциркуляции отражает множество взаимосвязанных и взаимообусловленных процессов, таких, в частности, как закономерности тока крови в микрососудах и состояние эндотелия, как в норме на различных этапах онтогенеза, так и при воздействии негативных факторов внешней среды, например таких широко распространенных в промышленности, как газообразные серосодержащие поллютанты. Таким образом, **целью данного исследования** стало изучение особенностей микроциркуляции с помощью ЛДФ в костном мозге у крыс на различных этапах постнатального онтогенеза в норме и при экспериментальном воздействии субтоксических доз серосодержащего газа.

Материал и методы исследования

Для изучения микроциркуляции были использованы белые нелинейные крысы-самцы в возрасте от 225 до 630 суток жизни, массой 180–250 г. Были сформированы две группы животных: контрольная (24 особи) и экспериментальная (48 животных), которая подвергалась воздействию серосодержащего газа. Эксперимент проводился в момент, когда животные достигали возраста, равного половине того периода своего развития, который соответствовал выбранному для экстраполяции этапу онтогенеза человека (таблица). Таблица построена по данным, приведенным в работе [2] с разбивкой зрелого периода онтогенеза крыс на два подпериода, соответственно таковому у человека.

В качестве токсического агента был применен промышленный природный серосодержащий газ Астраханского газоконденсатного месторождения. В экспериментах использовалась концентрация серосодержащего газа в газовой смеси, составляющая $90 \pm 4 \text{ мг/м}^3$ по сероводороду, что в 30 раз больше предельно допустимой концентрации (ПДК) сероводорода для рабочих зон химических предприятий при одновременном присутствии углеводородов.

Распределение экспериментальных животных в соответствии с периодами онтогенеза человека

Человек	Лабораторные крысы	
Период	Период	Возраст (сут.)
Юношеский возраст	Молодой	225
Взрослый возраст, I период	Зрелый I	383
Взрослый возраст, II период	Зрелый II	487
Зрелый возраст	Предстарческий	630

Концентрация сероводорода в затравочной камере производства Московского института профзаболеваний и гигиены труда им. Эрисмана измерялась индикаторными трубками фирмы «Ауег».

Условия эксперимента полностью соответствовали правилам проведения токсикологических экспериментов, изложенных в издании ВОЗ [8] и приказе МЗ РФ №267 от 19.06.2003.

Контрольными являлись крысы аналогичных возрастных групп, которые так же, как и экспериментальные, для нивелирования стрессорных эффектов по 6 особей находились 4 часа в герметически закрытой затравочной камере в тех же условиях, что и опытные, но без присутствия серосодержащего газа.

Измерение микроциркуляции проводили в условиях острого опыта: после наркотизации путем внутрибрюшинного введения раствора этиминала натрия из расчета 4 мг на 100 г массы тела животного производился доступ к проксимальному метафизу бедренной кости, а именно, к участку, расположенному дорзотерально между большим и малым вертелом бедра. Костная ткань метафиза щадяще фенестрировалась с формированием отверстия диаметром в 1,5 мм для оценки микроциркуляции костного мозга.

Исследования проводились при комнатной температуре 21–23 °С. Для получения данных о микроциркуляции использовалось оборудование НПП «Лазма» – ЛАКК-02 (Россия). Результаты ЛДФ-тестирования регистрировали в относительных перфузионных единицах – ПФ, которые отражают степень перфузии, преимущественно эритроцитарной фракцией крови, единицы объема ткани за единицу времени и позволяют проследить ее динамику при различных воздействиях [4].

Осуществлялась фармакологическая проба с ацетилхолином путем аппликации 1 мкл 0,001 %-го водного раствора в фенестрированное отверстие с последующей регистрацией изменений микроциркуляции. Регистрация и обработка данных производились с помощью программы LDF 2.20.0.507 WL. Статистический анализ полученных данных осуществлялся при помощи утилиты OpenOffice Calc программного продукта OpenOffice.

Результаты исследования и их обсуждение

Как показали исследования, возрастные колебания интенсивности микроциркуляции крови в красном костном мозге интактных крыс статистически достоверны на протяжении от 225 до 487 суток постнатального онтогенеза (рис. 1). С увеличением возраста животных до 630 суток наблюдается выраженное статистически высокодостоверное ($P < 0,01$) падение интенсивности микроциркуляции на $18 \pm 2\%$.

Воздействие субтоксических концентраций серосодержащего газа вызывает выраженное снижение интенсивности микроциркуляции в красном костном мозге крыс практически в два раза на всех изучаемых этапах постнатального онтогенеза. Однако наиболее значительное угнетение микроциркуляции на $57 \pm 4\%$ наблюдается у молодых животных.

В I зрелом периоде онтогенеза у экспериментальных животных наблюдается статистически достоверное ($P < 0,05$) повышение уровня микроциркуляции по сравнению с предыдущим периодом на $5 \pm 1\%$. С дальнейшим увеличением возраста колебания интенсивности микроциркуляции у экспериментальных животных были статистически недостоверными.

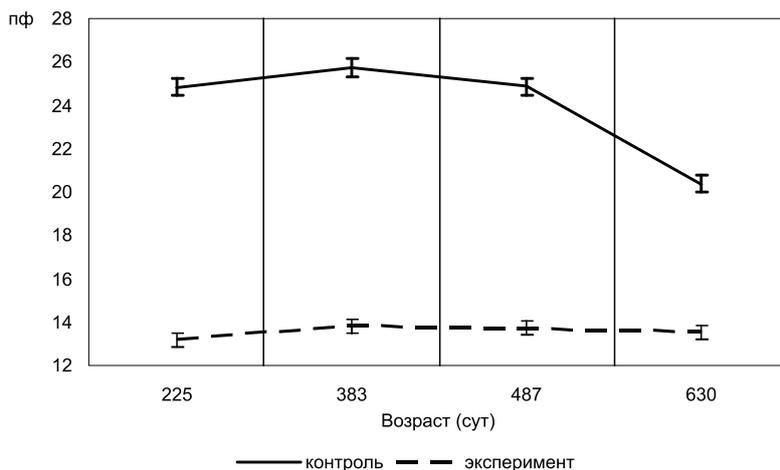


Рис. 1. Возрастная динамика интенсивности микроциркуляции у интактных животных (контроль) и подвергнутых воздействию серосодержащего газа (эксперимент)

Воздействие ацетилхолина на микроциркуляторное русло вызывает интенсификацию микроциркуляции (рис. 2–4), как у интактных животных, так и у подвергнутых воздействию субтоксических концентраций серосодержащего газа.

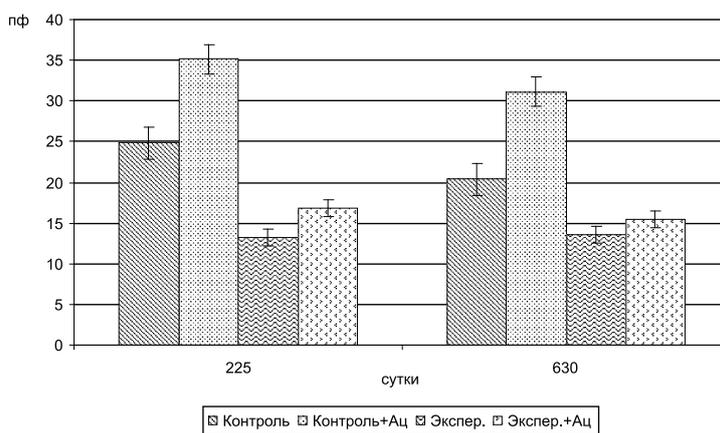


Рис. 2. Влияние ацетилхолина на микроциркуляцию у интактных животных (контроль) и подвергнутых воздействию серосодержащего газа (эксперимент)

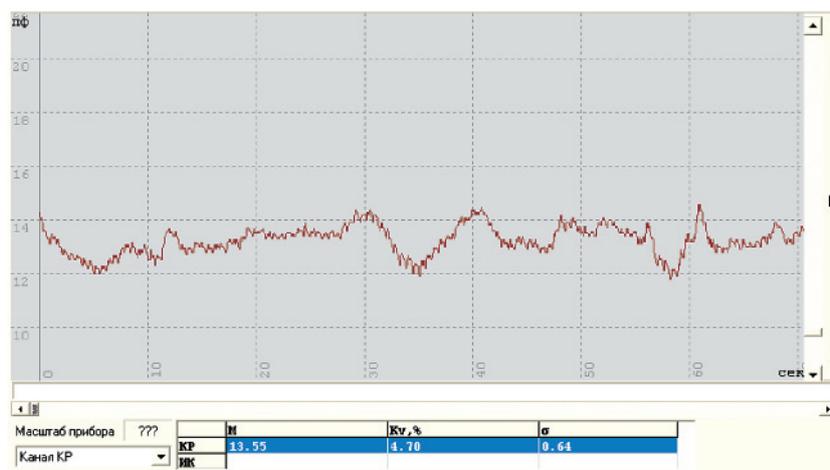


Рис. 3. ЛДФ-грамма микроциркуляции в красном костном мозге крысы 630 суток онтогенеза после воздействия серосодержащего газа

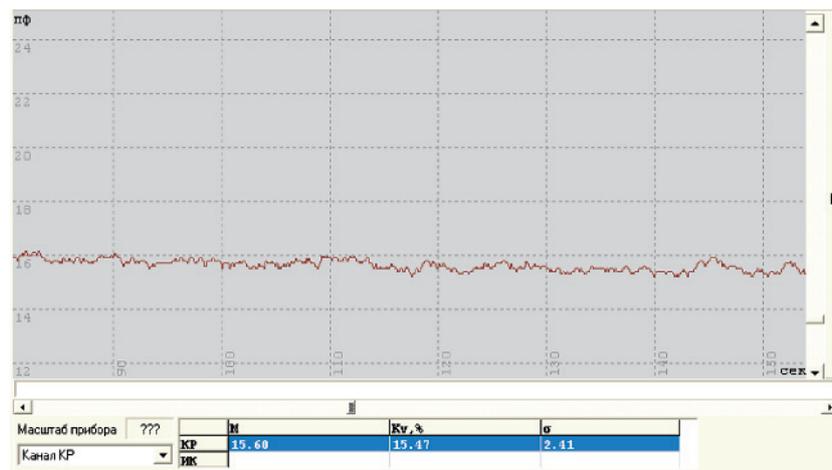


Рис. 4. ЛДФ-грамма микроциркуляции в красном костном мозге крысы 630 суток онтогенеза после воздействия серосодержащего газа и ацетилхолиновой пробы

Степень интенсификации микроциркуляции при ацетилхолиновой пробе, которая определяется в основном реакцией эндотелия, модулируется возрастом и токсическим воздействием. Так, воздействие ацетилхолина вызывает у интактных животных статистически высокодостоверное ($P < 0,01$) увеличение перфузии красного костного мозга на $29 \pm 4\%$ у крыс 225 суток развития и на $35 \pm 5\%$ у 630 суточных.

Большее, хотя и статистически недостоверное ($P > 0,05$), увеличение объема гемомикроциркуляции у животных предстарческого периода онтогенеза по сравнению с молодыми можно объяснить недостаточной сформированностью у последних механизмов ответа системы микроциркуляции на внешнее воздействие, что, впрочем, требует дальнейшего изучения.

Воздействие серосодержащих поллютантов значительно модифицирует реакцию гемомикроциркуляции на ацетилхолиновую пробу, как у молодых животных, так и в предстарческом периоде онтогенеза. Так, у молодых экспериментальных животных воздействие ацетилхолина вызывает статистически достоверное ($P < 0,05$) увеличение интенсивности микроциркуляции на $22 \pm 4\%$, а у животных предстарческого возраста статистически недостоверная ($P > 0,05$) интенсификация микроциркуляции достигает лишь $13 \pm 5\%$.

Следовательно, угнетение реакции гемомикроциркуляции на ацетилхолиновую пробу, обусловленное токсическим воздействием и являющееся следствием дисфункции эндотелия, составляет для молодых животных 132%, а для животных предстарческого периода онтогенеза – 269%.

Таким образом, на основании проведенного исследования можно сделать следующие **выводы**:

1. Интенсивность гемомикроциркуляции в красном костном мозге зависит от стадии постнатального онтогенеза организма и с возрастом снижается.

2. Токсическое воздействие, например, газообразных серосодержащих поллютантов, вызывает резкое угнетение гемомикроциркуляции в красном костном мозге, наиболее выраженное у молодых животных.

3. Интенсивность микроциркуляции после токсического воздействия незначительно, но статистически достоверно повышается в группе животных I взрослого возраста по сравнению с предыдущей стадией онтогенеза и остается практически постоянной до предстарческого возраста.

4. Реакция гемомикроциркуляции в красном костном мозге на ацетилхолиновую пробу положительна и является суперпозицией возраста и внешнего альтерирующего воздействия.

5. Животные предстарческого возраста обнаруживают более выраженную уязвимость гемомикроциркуляции красного костного мозга по сравнению с молодыми. Она вызвана, скорее всего, возрастной деградацией метаболизма эндотелия и нейрогуморальных механизмов регуляции микроциркуляции.

Список литературы

1. Гомазков, О.А. Молекулярные и физиологические аспекты эндотелиальной дисфункции. Роль эндогенных химических регуляторов // Успехи физиол. наук. – 2000. – Т. 31, № 4. – С. 48–62.
2. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. Лабораторные животные – Киев: Вища школа, 1983. – 381 с.

3. Кароли Н.А. Вазорегулирующая активность эндотелия и легочная гипертензия / Н.А. Кароли, А.П. Ребров // Терапевтический архив. – 2004. – №12. – С. 39–44.

4. Индивидуально-типологические особенности микроциркуляции у человека // В.И.Козлов, Ф.Б. Литвин, Т.И. Станишевская, М.В. Морозов / Official Journal of the International Academy of Integrative Anthropology. Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2007. – №9. – С. 249.

5. Крупаткин А.И. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови / А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров. – М.: Медицина, 2005. – 254 с.

6. Куприянов В.В., Караганов Я.Л., Козлов В.И. Микроциркуляторное русло. – М.: Медицина, 1975. – 340 с.

7. Лазько А.Е., Ярошинская А.П. Система крови в условиях воздействия серосодержащих поллютантов // Успехи современного естествознания. – М., 2007. – №8. – С. 54.

8. Принципы и методы оценки токсичности химических веществ. – Ч.1. Женева, ВОЗ, 1981. – 312 с.

9. Чернух А.М. Микроциркуляция / А.М. Чернух, П.Н. Александров, О.Б. Алексеев. – М.: Медицина, 1975. – 455 с.

10. Luscher T.F. Biology of endothelium / T.F. Luscher, M. Barton // Clin. Cardiol. – 1997. – Vol. 10, № 11. – P. 3–10.

References

1. Gomazkov O.A. Molekulyarnye i fiziologicheskie aspekty jndotelial'noj disfunkcii. Rol' jndogennyh himicheskikh reguljatorov – Uspehi fiziol. nauk. 2000. T. 31, no. 4. pp. 48–62.

2. Zapadnyuk I.P., Zapadnyuk V.I., Zahariya E.A. Laboratornye zhivotnye Kiev: Vischa shkola. 1983. 381 p.

3. Karoli N.A. Vazoreguliruyuschaya aktivnost' jndoteliya i legochnaya gipertoniya / N.A. Karoli, A.P. Rebrov – Terapevticheskij arhiv. 2004. no. 12. pp. 39–44.

4. Kozlov V.I. Individual'no-tipologicheskie osobennosti mikrocirkulyacii u cheloveka // V.I. Kozlov, F.B. Litvin, T.I. Stanishevskaya, M.V. Morozov / Official Journal of the International Academy of Integrative Anthropology. Biomedical and Biosocial Anthropology. 2007. no. 9. pp. 249.

5. Krupatkin A.I. Lazernaya dopplerovskaya floumetriya mikrocirkulyacii krove / A.I. Krupatkin, V.V. Sidorov M.: Medicina. 2005. 254 p.

6. Kupriyanov V.V., Karaganov Ya.L., Kozlov V.I. Mikroциркуляторное русло / V.V. Kupriyanov, Ya.L. Karaganov, V.I. Kozlov. M., Medicina. 1975. 340 p.

7. Laz'ko A.E., Yaroshinskaya A. P. Sistema krove v usloviyah vozdejstviya serosoderzhaschih pollyutantov "Uspehi sovremennogo estestvoznaniya", Moskva, 2007, no. 8, pp. 54.

8. Principy i metody ocenki toksichnosti himicheskikh veshchestv / Ch.I. Zheneva, VOZ, 1981. 312 p.

9. Chernuh, A. M. Mikrocirkulyaciya / A.M. Chernuh, P.N. Aleksandrov, O.B. Alekseev. – M.: Medicina, 1975. 455 p.

10. Luscher, T.F. Biology of endothelium. / T.F. Luscher, M. Barton – Clin. Cardiol. 1997. Vol.10, no. 11. pp. 3–10.

Рецензенты:

Молдавская А.А., д.м.н., профессор, профессор кафедры анатомии человека Астраханской государственной медицинской академии, г. Астрахань;

Сентюрова Л.Г., д.м.н, профессор, зав. кафедрой медицинской биологии Астраханской государственной медицинской академии, г. Астрахань.

Работа поступила в редакцию 09.04.2012.