

Микрогемоциркуляция при остром общем охлаждении на фоне введения криоконсервированного экстракта плаценты

А.К. ЧЕРЕМСКОЙ, И.В. СЛЕТА, Д.Г. ЛУЦЕНКО, О.С. ПРОКОПЮК, В.В. ЧИЖЕВСКИЙ, Н.Г. ГРИШЕНКО
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Непременным компонентом стрессорной реакции является активация симпатoadренальной и гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы. Высвобождение гормонов этих двух систем во время стресса рассматривается как причина возникновения нарушений в системе микроциркуляции [5]. Таким образом, оценка состояния микроциркуляции может быть использована для характеристики стрессорных реакций и как важнейший показатель адаптационных возможностей организма [4,6,7].

Криоконсервированный экстракт плаценты, содержащий высокие концентрации гормонов, адаптогенов, ферментов и других биологически активных веществ, может быть применен для профилактики рационально дозированной адаптации к неблагоприятным факторам окружающей среды, стрессам.

Цель нашего исследования – сравнительная характеристика состояния микрогемоциркуляции в подкожной клетчатке, мышцах и печени крыс при остром общем охлаждении после предварительного введения криоконсервированного экстракта плаценты и без введения препарата.

Материалы и методы

Работа выполнена на 6-месячных крысах-самцах массой 130-150 г в соответствии с правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986 г.). Экспериментальных животных брали до утреннего кормления. Проведены 3 серии экспериментов, в каждой регистрировали температуру и показатели микроциркуляции кожи, икроножных мышц и печени в течение 40 мин.

Эксперименты первой серии выполнены на интактных животных (n=6), наркотизированных внутрибрюшинным введением смеси 10% раствора тиопентала натрия и 20% раствора оксибутирата натрия в соотношении 1:3 из расчета 0,4 мл смеси на 100 г массы животного.

Во второй серии опытов животных (n=10) подвергали таким стрессорным воздействиям, как холодный стресс и физическая нагрузка.

В третьей экспериментальной серии (n=10) стрессорные воздействия (холодовое и физическое) осуществляли после 5-дневного внутрибрюшинного введения криоконсервированного экстракта плаценты в дозе 0,1 мл/100г.

Для острого общего охлаждения крыс погружали в водяную баню с температурой 4°C, где животные плавали, не имея возможности опираться на стенки и дно бани, до момента, когда они уже не могли держаться на поверхности воды и тонули. Фиксировали время плавания и ректальную температуру.

Динамику микрогемоциркуляторных нарушений изучали методом контактной биомикроскопии с помощью микроскопа ЛЮАМ К-1, снабженного средствами фото- и видеорегистрации с непосредственной записью на жесткий диск компьютера (в режиме on line). Животных второй и третьей экспериментальных серий исследовали при холодном наркозе в течение 60 мин. Исследования проводили в режимах поляризации и люминесценции. В качестве люминесцирующей метки использовали флуоресцеин натрия (уранин) в дозе 0,25 мг/100 г массы животного. Анализ видеоматериалов осуществляли с помощью оригинальных компьютерных программ “ФРАМ”.

Температуру тканей при регистрации микроциркуляции измеряли медь-константановыми термопарами, подключенными к универсальному вольтметру В7-21А.

Результаты и обсуждение

По проведенной прижизненной микроскопии подкожной клетчатки, икроножной мышцы и печени животных первой экспериментальной серии оценивали архитектуру микроциркуляторного русла, состояние кровотока, диаметры микрососудов. Полученные результаты принимали как норму или контроль состояния микроциркуляции в исследуемых тканях. Эти результаты совпадают с данными [1-3].

Температуру исследуемых тканей регистрировали у зафиксированного на манипуляционном столе животного через 20 мин после введения наркоза. При этом температура подкожной клетчатки была 29,0±0,2°C, мышцы – 30,7±0,8°C, печени – 32,3±0,5°C. Такая температура сохранялась в течение всего времени наблюдения (60 мин) при температуре воздуха 22,1±0,7°C. Подкожная

Адрес для корреспонденции: Прокопюк О.С., Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 373-42-84, факс: +38 (057) 373-30-84, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

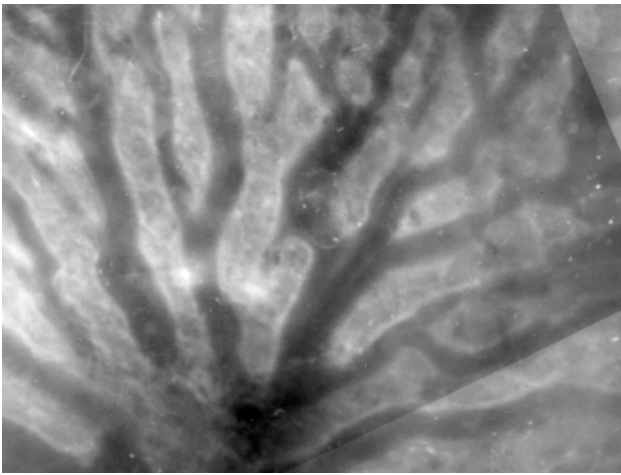


Рис.1. Микрососуды печени интактного животного. Об.×10;ок.×7. Терминальная печеночная венула расходящимися синусоидами.

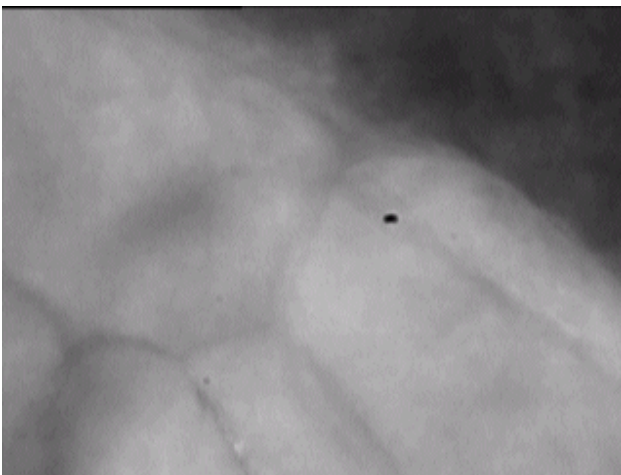


Рис.3. Микрососуды подкожной клетчатки интактного животного. Об.×10; ок×7.

клетчатка и мышцы во время исследований были розового цвета, печень – бурая. Микрососуды имели традиционную для исследуемых тканей архитектуру, кровотоков ламинарный, быстрый (рис. 1-3).

Во второй серии экспериментов время плавания крыс в водяной бане с температурой 4°C составляло 395 ± 10 с при ректальной температуре животных $21,25 \pm 0,75$ °C. Через 5 мин после окончания холодового воздействия температура кожи и икроножных мышц животных составляло $18,5 \pm 1,5$ °C при температуре воздуха $22,1 \pm 0,7$ °C. Цвет кожи был бело-голубым, наблюдался спазм всех элементов микрогемодикуляторного русла, кровотоков отсутствовал. Мышцы бледно-розовые с синюшным оттенком. Большая часть капилляров выключена из кровотока. Поверхность печени имела светлый рисунок, что вызвано отсутствием кровотока в большинстве синусоидов, кровотоков наблюдался в терминальных печеночных венулах, терминальные портальные венулы спазмированы.

Кровотоков в подкожной клетчатке начинал

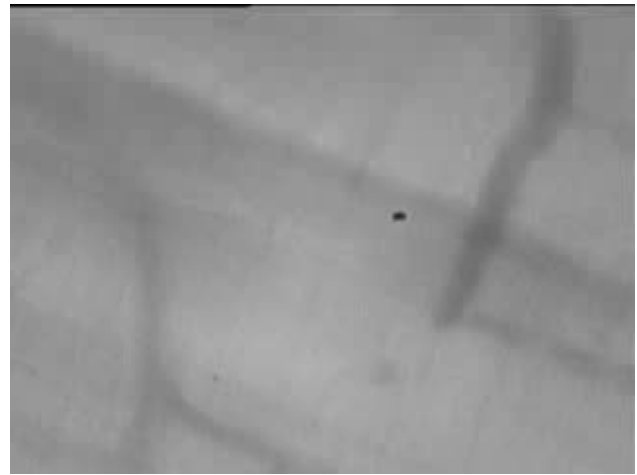


Рис.2. Микрососуды скелетной мышцы интактного животного. Об.×10;ок.×7.

восстанавливаться через 15 мин после плавания. Температура кожи при этом изменялась незначительно и составляла $19,2 \pm 1,0$ °C.

Основной особенностью животных третьей группы явилось то, что часть экспериментальных животных (названы подгруппой А) проявила повышенную устойчивость к нагрузкам, что выразилось в более длительном (в 2-3 раза дольше, чем во второй группе) пребывании на плаву в холодной воде до ректальной температуры $17,1 \pm 1,5$ °C. Вторая часть животных третьей группы (названы подгруппой Б) находилась на плаву в холодной воде такое же время, как и животные второй группы, и имели ректальную температуру $9,5 \pm 1,0$ °C, что значительно не отличается от показателей второй группы.

Через 5 мин после извлечения из холодной воды кожа животных третьей группы имела бледно-розовый цвет, что связано с сохранением кровотока в микрососудах. Сосуды сужены, часть капилляров заполнена плазмой без форменных элементов. Температура подкожной клетчатки и мышц была на 1-2°C ниже ректальной. Большая часть капилляров мышц была выключена из кровотока. В сосудах, где кровотоков сохранялся, наблюдалось сгущение крови, сладжирование эритроцитов, адгезия лейкоцитов к эндотелию. В то же время температура печени животных подгруппы А совпадала с ректальной температурой, а в подгруппе Б была на $0,5-0,7$ °C ниже ректальной. При этом кровотоков сохранялся во всех элементах микрогемодикуляторного русла. Кровотоков медленный, наблюдались микротромбы и кровоизлияния.

Через 15 мин после плавания у животных третьей группы восстанавливался кровотоков в подкожной клетчатке и мышцах, что выражалось в увеличении числа функционирующих микрососудов, нормализации скорости кровотока. В

печени регистрировалось незначительное повышение температуры (на 1-2°C). Наблюдались вазодилатация, замедление кровотока, сгущение крови, агрегация эритроцитов. Печень выглядела полнокровной.

Наблюдения во второй и третьей группах прекращали через 20-30 мин после окончания плавания, так как к этому времени у животных проходила холодная анестезия и начинали восстанавливаться болевая чувствительность и двигательная активность. Ректальная температура у этих групп животных была $21,1 \pm 0,9^\circ\text{C}$, что вызвано процессами саморазогрева, перераспределения кровотока и теплообмена с окружающей средой.

Выводы

Проведенные эксперименты показали различия в формировании компенсаторно-приспособительных реакций к физическим нагрузкам в условиях острой гипотермии у животных второй и третьей групп. Основным отличием является то, что у животных, которым предварительно вводили криоконсервированный экстракт плаценты, в момент, когда животное уже не могло держаться на плаву, сохранялась микрогемодициркуляция в подкожной клетчатке и мышцах. В то время у животных второй группы наблюдались резкий спазм всех элементов микроциркуляторного русла в подкожной клетчатке, спазм и сокращение количества функционирующих сосудов в мышцах. Можно предположить, что сохранение кровотока в мышцах и подкожной клетчатке животных третьей группы предотвращало гипоксию тканей и позволяло организму лабораторных животных быстрее восстанавливаться на этапе самоотогрева.

Через 15 мин после плавания микрогемодициркуляторные изменения в печени у животных второй и третьей групп не имели достоверных различий, что может объясняться более надежными защитными реакциями организма для сохранения гомеостаза органов ядра, хотя в первые минуты наблюдения у животных второй группы отмечали вазоконстрикцию приносящих сосудов.

Литература

1. *Гичев Ю.П.* Роль печени в стрессорных реакциях организма // Успехи физиол. наук.– 1990.– Т.21, №1.– С.23-46.
2. *Гончар О.О., Гавенаускас Б.Л., Маньковська І.М.* Вплив різних режимів інтервального гіпоксичного тренування на прооксидантно-антиоксидантний статус м'язової тканини щурів при адаптації до гіпоксії навантаження// Експериментальна фізіологія та біохімія.– 2005.– №1.– С.7-15.

3. *Калюжна Л.Д., Верещака В.В.* Вплив мікроциркуляції на морфофункціональний стан шкіри // Фізіол. журнал.– 2002.– Т.48.– №3.– С.102-107.
4. *Мельникова Н.П.* Микроциркуляция в мозге крысы в условиях ишемии при гипотермическом воздействии: Физиология и медицина / Всерос. конференция молодых исследователей.– С. Пб, 2005.– С.74.
5. *Филаретова Л.П., Пыхолов А.А., Мальцев Н.А., Левкович Ю.И.* Влияние стресса и кортикостероидов на скорость кровотока в микрососудах мышечной оболочки желудка крыс // Физиол. журнал им. И.М. Сеченова.– 1995.– Т.81.– №6.– С.66-75.
6. *Borg E.D., Werker P.M., Franken R.J. et al.* Effect of vascular freezing on the histopathology of dissected small vessels in the rat: vascular freezing does induce intimal hyperplasia in arteries and veins // Microsurgery.– 2000.– Vol.20, N7.– P. 331-336.
7. *Pries A.R., Secomb T.W.* Microvascular adaptation-regulation, coordination and function // Z. Kardiol.–2000.– Vol.89,9.– P. 117-120.