

томов республики Беларусь «Высокие технологии в морфологии, их значение в клинике и перспективы внедрения в практическое здравоохранение», Минск, 12–13 июня 2006 г. — Мн., 2006. — С. 48–50.

7. Гистология / Под ред. В. Г. Елисеева. — М.: Медгиз, 1963. — 672 с.

8. Хэм, А. Гистология: Пер. с англ. / А. Хэм, Д. Кормак. — М.: Мир, 1983. — Т. 3. — 293 с.

9. Анатомия домашних животных / Под ред. С. Б. Селезнева. — М.: ООО «Аквариум – Принт», 2005. — 640 с.

10. Климов, А. Ф. Анатомия домашних животных / А. Ф. Климов, А. И. Акаевский. — СПб.: Лань, 2003. — 1040 с.

11. Гистология (введение в патологию) / Под ред. Э. Г. Улумбекова, Ю. А. Чельшева. — М.: ГЭОТАР, 1997. — 960 с.

12. Гистология: учебник; под ред. Ю. И. Афанасьева, Н. А. Юриной. — М.: Медицина, 1999. — 744 с.

13. Anatomy of the Human Body by Henry Gray, LEA FEBIGER, PHILADELPHIA. — 1975. — 1466 p.

Поступила 03.01.2008

УДК: 616.1.001.73

СОСТОЯНИЕ ВНУТРИСОСУДИСТОГО ГОМЕОСТАЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВЕНОЗНОМ ТРОМБОЗЕ

Ю. С. Небылицин, С. А. Сушков, А. П. Солодков, В. И. Козловский

Витебский государственный медицинский университет

Установлено, что наиболее значительное снижение деформируемости эритроцитов (ДЭ) — на 76,8% отмечалось в 1 сутки после моделирования венозного тромбоза. На 5 сутки ДЭ была ниже на 36,7%, чем в контроле, но выше, чем в 1 сутки после введения тромбина на 29,3%. На 15 сутки ДЭ оказалась снижена на 16,7% по сравнению со значениями в контрольной группе. В 1 сутки экспериментального венозного тромбоза отмечалось увеличение числа циркулирующих эндотелиоцитов (ЦЭК) на 40,7%, по сравнению с контролем. На 5 сутки выявлялось также возрастание числа ЦЭК на 18,4% по сравнению с контрольными значениями, но ниже, чем в 1 сутки на 15,2%. На 15 сутки количество ЦЭК возвращалось к значениям, обнаруженным в контрольной группе. Содержание нитратов/нитритов через сутки после введения тромбина снижалось на 8,9%, а на 5 сутки статистически не отличалось от показателей в контрольной группе. На 15 сутки содержание нитратов/нитритов оказалось выше на 16,7%, чем в контроле. Концентрация диеновых конъюгатов (ДК) в 1 и 5 сутки моделирования венозного тромбоза возросла в 2,4 и в 2,8 раза соответственно. На 15 сутки после введения тромбина концентрация ДК оказалась выше на 77,5% по сравнению со значениями, обнаруженными в контрольной группе.

Следовательно, острый венозный тромбоз сопровождается снижением ДЭ, содержания нитратов / нитритов в плазме, возрастанием числа ЦЭК и концентрации ДК.

Таким образом, обоснована рациональность применения деформируемости эритроцитов, циркулирующих эндотелиоцитов и диеновых конъюгатов в комплексном обследовании при остром тромбозе глубоких вен.

Ключевые слова: окислительный стресс, деформируемость эритроцитов, венозный тромбоз.

INTRAVASCULAR HOMEOSTASIS STATE IN CASE OF EXPERIMENTAL VENOUS THROMBOSIS

Yu. S. Nebylitsin, S. A. Sushkov, A. P. Solodkov, V. I. Kozlovsky

Vitebsk State Medical University

The most significant 76,8% decrease in the erythrocytes deformity was established to occur in the first day after venous thrombosis simulation. In the fifth day, the erythrocytes deformity was 36,7% lower than in the control group, but 29,3% higher than in the first day after thrombin introduction. In the fifteenth day the erythrocytes deformity decreased by 16,7% in comparison with the indexes in the control group. In the first day of the experimental venous thrombosis, an increase by 40,7% in the circulating endotheliocytes number was marked in comparison with the control. In the fifth day there was an increase of the circulating endotheliocytes number in comparison with the control indexes, but the number was 15,2% lower than in the first day. In the fifteenth day the circulating endotheliocytes number became the same as in the control group. The content of nitrates/nitrites after thrombin introduction decreased by 8,9%, and in the fifth day it wasn't statistically different from the indexes in the control group. In the fifteenth day the nitrates/nitrites content appeared to be 16,7% higher than in the control group. Dienal conjugates (DC) concentration in the first and fifth days of the venous thrombosis simulation has 2,4 and 2,8 times increased. In the fifteenth day after thrombin introduction DC was 77,5% higher in comparison with the indexes in the control group. Consequently, acute venous thrombosis is accompanied by the erythrocytes deformity decrease, nitrates/nitrites presence in the plasma and by an increase of the circulating endotheliocytes number and DC concentration.

Thus, rationality of the erythrocytes deformity, circulating endotheliocytes and dienal conjugates application is grounded in the complex examination in case of acute deep veins thrombosis.

Key words: oxidation stress, erythrocytes deformity, venous thrombosis.

По данным ряда авторов [8, 10], в последние годы отмечается рост тромботических поражений глубоких вен нижних конечностей. Тромбоз глубоких вен (ТГВ) в системе нижней полой вены чреват осложнениями, приводящими к потере трудоспособности и угрожающими жизни [9, 10]. Поэтому все исследования, направленные на изучение вопросов этиологии, патогенеза и лечения данной патологии, представляются актуальными.

При ТГВ в условиях гипоксии венозной стенки изменяются показатели кислородтранспортной функции крови [13, 14], процессов перекисного окисления липидов [7, 8], антиоксидантной системы, реологические свойства крови [1], в частности, деформируемость и агрегация эритроцитов [13, 14]. Важная роль в поддержании внутрисосудистого гомеостаза принадлежит эндотелию, чья функциональная активность изменяется в условиях кислородной недостаточности при венозном тромбозе [6, 7]. От деформируемости зависит способность эритроцитов поддерживать кровоток в микроциркуляторном русле и обеспечивать доставку тканям кислорода [11, 15]. Повышение вязкости может наблюдаться при изменении метаболических процессов в эритроцитах и в целом всего организма [3]. В возникновении нарушения кислородного обеспечения при ТГВ важная роль принадлежит не только кислородсвязующим свойствам крови, но также и активации свободно-радикальных реакций. Следовательно, все рассмотренные показатели в условиях развития гипоксии при венозном тромбозе могут тесно взаимодействовать на этапе нарушения его стабильности и требуют изучения. Поэтому исследование деформируемости эритроцитов (ДЭ), циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК), продуктов деградации монооксида азота (NO_2/NO_3) и диеновых конъюгатов (ДК) при остром тромбозе глубоких вен нижних конечностей является актуальным.

Цель работы: изучение изменений деформируемости эритроцитов, активности окислительного стресса и их взаимосвязи с выраженностью дисфункции эндотелия в условиях экспериментального моделирования венозного тромбоза.

Материалы и методы

Эксперимент выполнен на 125 беспородных крысах-самцах массой 300–350 г (контрольная группа 63 здоровые крысы). После определения пульсации подвздошной артерии в месте её проекции производили разрез кожи и подкожной клетчатки длиной 4–5 см. Путем тупого разъединения мышц находили сосудисто-нервный пучок, выделяли в нем подвздошную вену и перевязывали ее. Тромбоз в эксперименте воспроизводили путем введения 0,3 мл подогретого до 37–37,5°C раствора тромбина (40 ЕД/кг).

Рану послойно ушивали. После выведения из наркоза экспериментальное животное помещалось в виварий, где проводилось наблюдение.

Кровь для исследования у экспериментальных животных получали из орбитальной вены на 1, 5 и 15 сутки после операции. В качестве контроля исследовалась кровь 63 здоровых беспородных крыс.

В венозной крови определяли деформируемость эритроцитов. Метод определения деформируемости эритроцитов основан на регистрации скорости прохождения суспензии эритроцитов через сетчатые фильтры. Использовался сетчатый бумажный фильтр ТУ 6-09-1706-82. Выделение эритроцитов производили путем центрифугирования при 2000 об./мин, в течение 10 мин. Отделившуюся плазму удаляли. Из полученного осадка эритроцитов производили забор необходимого количества и добавляли фосфатный буферный раствор ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$) с pH 7,4 в объеме, в 10 раз превосходящем объем осадка [4]. При определении влияния плазмы крови в качестве суспензионной среды использовалась бестромбоцитарная плазма. Количество ЦЭК определяли по методу J. Hladovec et al. (1978) [12], содержание ДК в плазме крови определяли по методу Гаврилова В.Б. и соавт. [2]. Содержание стабильных продуктов деградации монооксида азота в плазме крови определяли по методу Грисса. Конверсию нитратов в нитриты осуществляли цинковой пылью, обработанной аммиачным комплексом сульфата меди, которую добавляли в пробирку с исследуемой плазмой [5].

В течение исследования ни одно из опытных животных не погибло.

Цифровой материал обрабатывали статистически с использованием стандартных пакетов прикладных программ «Statistica» 6,0. В зависимости от характера полученных данных использовали параметрические и непараметрические статистические методы. Сравнение выборок при распределении, отличающемся от нормального, проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Для оценки корреляционной связи применялся ранговый коэффициент корреляции Spearman.

Результаты и их обсуждение

При исследовании реологических свойств в венозной крови крыс среднее по контрольной группе значение показателя деформируемости отмытых эритроцитов оказалось равным $36,52 \pm 1,23$ сек ($n = 19$, $M \pm m$) (рисунок 1).

В 1 сутки после моделирования экспериментального венозного тромбоза определялось наиболее значительное снижение ДЭ — на 76,8% ($p < 0,001$), она составляла $64,57 \pm 2,46$ сек. На 5 сутки ДЭ была ниже на 36,7%, чем в контроле ($p < 0,001$), но выше, чем в 1 сутки после

моделирования тромбоза на 29,3% и равнялась $49,94 \pm 1,01$ сек. На 15 сутки ДЭ оказалась снижена на 16,7% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем и составляла $42,63 \pm 1,71$ сек.

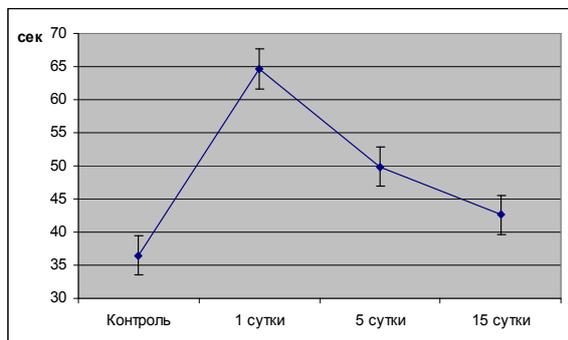


Рисунок 1 — Деформируемость эритроцитов у экспериментальных животных (при исследовании в буферном растворе)

При исследовании реологических свойств в венозной крови крыс среднее по контрольной группе значение показателя ДЭ в плазме составило $65,53 \pm 1,16$ сек ($n = 19$, $M \pm m$) (рисунок 2).

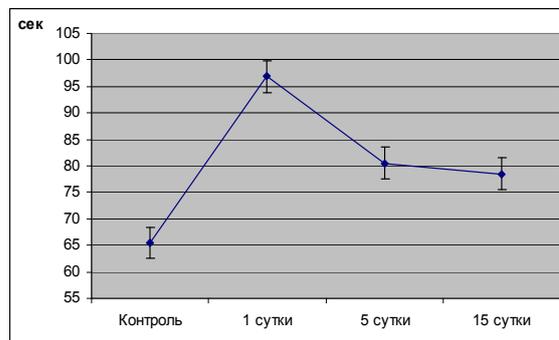


Рисунок 2 — Деформируемость эритроцитов у экспериментальных животных (при исследовании в плазме)

В 1 сутки после моделирования венозного тромбоза в эксперименте при определении влияния плазмы крови ДЭ оказалась снижена на 47,9% ($p < 0,001$) и составила $96,94 \pm 2,2$ сек. На 5 и 15 сутки ДЭ была ниже, чем в контрольной группе на 22,9% ($p < 0,001$) и 19,8% ($p < 0,001$), но повысилась по сравнению со значениями, обнаруженными в 1 сутки после моделирования тромбоза, на 16,9 и 19% и равнялась $80,52 \pm 1,41$ сек и $78,52 \pm 1,54$ соответственно.

Следовательно, при венозном тромбозе наблюдается снижение деформируемости эритроцитов.

Таким образом, проведенные исследования показали, что при моделировании экспериментального тромбоза изменяются реологические свойства крови, в частности, деформируемость эритроцитов, что может приводить к нарушению микроциркуляции.

В венозной крови крыс контрольной группы концентрация ДК составляла $108,96 \pm 7,84$ нМ/г липидов ($n = 13$, $M \pm m$) (рисунок 3), содержание NO_2/NO_3 оказалось равным $37,31 \pm 1,99$ ($n = 15$, $M \pm m$) (рисунок 4), количество ЦЭК составило $28,63 \pm 0,82$ клеток/100 мкл ($n = 30$, $M \pm m$) (рисунок 5).

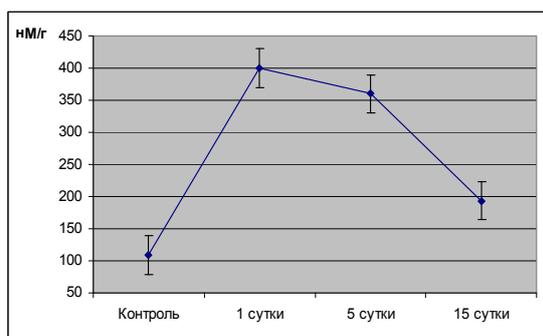


Рисунок 3 — Содержание диеновых конъюгатов в венозной крови у экспериментальных животных

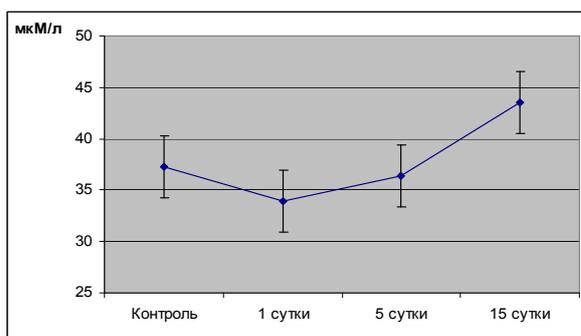


Рисунок 4 — Содержание нитратов/нитритов в венозной крови у экспериментальных животных

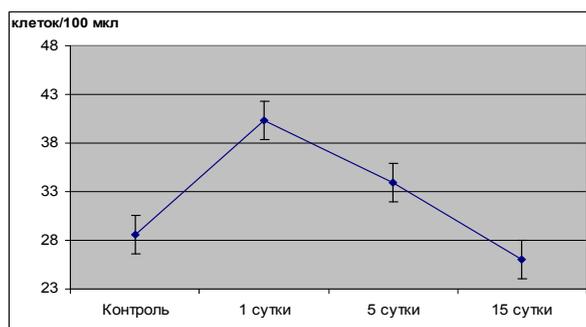


Рисунок 5 — Содержание циркулирующих эндотелиоцитов в венозной крови у экспериментальных животных

В 1 сутки экспериментального тромбоза концентрация ДК возрастала в 2,6 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контролем и равнялась $399,64 \pm 28,49$ нМ/г липидов. Статистической значимости различий концентраций ДК на 1 и 5 сутки после моделирования венозного тромбоза не было ($p < 0,001$). На 15 сутки после введения тромбина концентрация ДК возрастала на 77,5% по сравнению со значениями, обнаруженными в контрольной группе, и составляла $193,39 \pm 20,52$ нМ/г липидов ($p < 0,05$).

Содержание NO_2/NO_3 в 1 сутки экспериментального венозного тромбоза снижалось на 8,9% и составляло $33,96 \pm 1,99$ мкМ/л. Через 5 суток содержание NO_2/NO_3 статистически не отличалось от показателей в контрольной группе, но повышалось на 7,2% по сравнению со значениями в 1 сутки после введения тромбина и равнялось $36,39 \pm 2,41$ мкМ/л. На 15 сутки экспериментального моделирования венозного тромбоза содержание NO_2/NO_3 оказалось выше на 16,7 и 19,7%, чем в контроле ($p < 0,05$) и на 5 сутки соответственно и составляло $43,55 \pm 1,92$ мкМ/л.

Наиболее значительное увеличение содержания ЦЭК определялось в 1 сутки после экспериментального моделирования тромбоза на 40,7% ($p < 0,005$) и составляло $40,27 \pm 1,15$ клеток/100 мкл. Через 5 суток содержание ЦЭК было на 18,4% выше ($p < 0,05$), чем в контроле, но ниже, чем в 1 сутки после моделирования венозного тромбоза на 15,2% и равнялось $33,9 \pm 0,89$ клеток/100 мкл. На 15 сутки количество ЦЭК возвращалось к значениям, обнаруженным в контрольной группе — $26,04 \pm 1,08$ клеток/100 мкл ($p < 0,5$).

Полученные данные указывают, что при экспериментальном венозном тромбозе наблюдалось повышение в крови циркулирующих эндотелиальных клеток, снижение содержания нитратов/нитритов и повышение концентрации ДК.

Значительное повышение уровня ЦЭК указывает на повреждение эндотелия, что достоверно коррелирует с увеличением концентрации ДК. Коэффициент корреляции между ЦЭК и ДК составляет $R = 0,47$ ($p < 0,05$). На 5 сутки моделирования венозного тромбоза снижение деформируемости эритроцитов в плазме коррелирует с повышением уровня диеновых конъюгатов. Коэффициент корреляции между значениями составляет $R = 0,67$ ($p < 0,05$). В связи с этим можно предположить, что на 5 сутки экспериментального венозного тромбоза на снижение деформируемости эритроцитов оказывают влиянием плазменные факторы. Повидимому, снижение ДЭ связано с нарушением вязкостно-эластических свойств эритроцитов под влиянием перекисного окисления липидов, так как коэффициент корреляции между ДК и ДЭ составляет $R = 0,71$ ($p < 0,001$). Это, в свою очередь, мо-

жет приводить к их функциональной неполноценности и формированию кислородной недостаточности с последующим критическим нарушением клеточного метаболизма.

Кроме того, повышенная жесткость мембран эритроцитов является одним из факторов, приводящих к травматическому повреждению эндотелия венозных сосудов, что сопровождается отрывом клеток эндотелия от базальной мембраны. Это подтверждалось в исследовании увеличением количества циркулирующих в крови эндотелиоцитов. Коэффициент корреляции между ЦЭК и ДЭ в плазме составляет $R = 0,38$, в буферном растворе — $R = 0,41$ ($p < 0,05$).

При венозном тромбозе в условиях острой гипоксии изменяется секреция монооксида азота (NO) и, как следствие, происходит нарушение инициируемых им реакций, которыми являются поддержание прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма и регуляция кислородтранспортной функции крови. Возможно, одним из факторов, увеличивающих жесткость мембран эритроцитов, является угнетение синтеза NO.

Таким образом, при экспериментальном моделировании венозного тромбоза развивается изменение гомеостаза, проявляющееся снижением ДЭ, дисфункцией эндотелия, которая характеризуется повреждением его целостности, нарушением функциональной способности, изменением синтеза NO и накоплением продуктов ПОЛ. Выявленные изменения ДЭ, показателей окислительного стресса и числа ЦЭК указывают на дисбаланс в многоуровневой системе равновесия организма при данной патологии.

Выводы

1. При экспериментальном моделировании острого тромбоза глубоких вен происходит снижение деформируемости эритроцитов, повышение в крови уровня циркулирующих эндотелиальных клеток, накопление ДК — маркера перекисного окисления липидов.

2. Активация показателей процессов перекисного окисления липидов и снижение деформируемости эритроцитов являются факторами, ассоциирующимися с повреждением эндотелия при венозном тромбозе.

3. Для оценки состояния венозного русла при остром тромбозе глубоких вен дополнительным критерием, отражающим тяжесть повреждения эндотелия, могут служить концентрация диеновых конъюгатов, число циркулирующих эндотелиоцитов и деформируемость эритроцитов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Баркаган, З. С. Основы диагностики нарушений гемостаза / З. С. Баркаган, А. П. Момот. — М., 1999. — 246 с.
2. Изменение диеновых конъюгатов в плазме по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изопропиловых экстрактов / В. Б. Гаврилов [и др.] // Лабораторное дело. — 1998. — № 2. — С. 60–64.

3. Зинчук, В. В. Деформируемость эритроцитов: физиологические аспекты / В. В. Зинчук // Успехи физиологических наук. — 2001. — № 3. — С. 66–78.
4. Козловский, В. И. Фильтрационные методы исследования деформируемости эритроцитов / В. И. Козловский, Е. С. Атрошенко, И. В. Петухов. — Витебск, 1996. — 15 с.
5. Модифицированный метод определения NO₃ и NO₂ с помощью цинковой пыли в присутствии аммиачного комплекса сульфата меди / И. С. Веремей [и др.] // Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования: сб. тр. Республ. науч.-практ. конф. / Витебск. гос. мед. ун-т. — Витебск, 2000. — С. 112–115.
6. Небылицин, Ю. С. Дисфункция эндотелия при экспериментальном моделировании острой венозной недостаточности / Ю. С. Небылицин, С. А. Сушков, А. П. Солодков // Вестник ВГМУ. — 2007. — № 2. — С. 48–56.
7. Небылицин, Ю. С. Показатели окислительного стресса и циркулирующих эндотелиоцитов в разные стадии тромбоза глубоких вен нижних конечностей / Ю. С. Небылицин, С. А. Сушков, А. П. Солодков // Новости хирургии. — 2007. — № 2. — С. 24–31.
8. Воевода, М. Т. Профилактика и лечение тромбоза глубоких вен: учеб.-метод. пособие / М. Т. Воевода, А. А. Бешко. — Мн.: Белпринт, 2006. — 48 с.
9. Профилактика и лечение тромбоэмболических осложнений в травматологии и ортопедии: практ. пособие / Е. Д. Белоенко [и др.]. — Мн.: ООО В.И.З.А. ГРУПП, 2006. — 174 с.
10. Флебология: руководство для врачей / В. С. Савельев [и др.]; под ред. В. С. Савельева. — М.: Медицина, 2001. — 664 с.
11. Banerjee, R. The diagnostic relevance of red cell rigidity / R. Banerjee, K. Nageshwari, R. R. Puniyani // Clin. Hemorheol Microcirc. — 1998. — Vol. 19, № 1. — P. 21–24.
12. Hladovec, J. Circulating endothelial cells as a sign of vessels wall lesions / J. Hladovec // Physiologia bohemoslovaca. — 1978. — Vol. 27. — P. 140–144.
13. Michiels, C. Endothelial cell reponses to hypoxia: initiation of a cascade of cellular interactions / C. Michiels, T. Arnould, J. Remabe // J. Biophim. Biophys. Acta. — 2000. — Vol. 1497, № 1. — P. 1–10.
14. Parthasarathi, K. Capillary recruitment in response to tissue hypoxia and its dependence on red blood cell deformability / K. Parthasarathi, H. H. Lipowsky // Am. J. Physiol. — 1999. — Vol. 277, № 6. — P. 2145–2157.
15. Van-Gelder, J. M. Erythrocyte aggregation and erythrocyte deformability modify the permeability of erythrocyte enriched fibrin network / J. M. Van-Gelder, C. H. Nair // Thromb. Res. — 1996. — Vol. 1, № 82. — P. 33–42.

Поступила 01.02.2008

ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ И ЗДРАВООХРАНЕНИЕ, ГИГИЕНА

УДК 614.2:502(4)(476)

СОСТОЯНИЕ И ПРОГНОЗ ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИМИ ФАКТОРАМИ, В ЕВРОПЕ И РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

В. Н. Бортновский, В. И. Ключенович

Гомельский государственный медицинский университет
Республиканский научно-практический центр гигиены, г. Минск

Представлен сравнительный анализ тенденций изменения состояния окружающей среды в странах Европейского Союза и Республики Беларусь. Показана связь между уровнями загрязнения атмосферного воздуха и заболеваемостью детей. Установленные закономерности и тенденции требуют разработки и внедрения специальных мероприятий, нацеленных на уменьшение негативного воздействия вредных экологических факторов на здоровье.

Ключевые слова: экологическая ситуация, экологически обусловленная заболеваемость, состояние и прогноз здоровья.

CONDITION AND FORECAST OF THE POPULATION HEALTH CAUSED BY ECOLOGICAL FACTORS, IN EUROPE AND BELARUS

V. N. Bortnovsky, V. I. Kljuchenovich

Gomel State Medical University
Republican Scientific-and-Practical Center of Hygiene.Minsk

The comparative analysis of tendencies of environmental condition change in European Union countries and Belarus is submitted. Connection between levels of atmospheric air pollution and children's morbidity is shown. The established laws and tendencies demand development and special actions aimed at negative influence reduction of harmful ecological factors on health.

Key words: Ecological situation, ecologically caused morbidity, condition and forecast of health.

Введение

Об актуальности проблемы здоровья во взаимосвязи с состоянием окружающей среды свидетельствует то, что ООН признает обеспе-

чение ее стойкого развития одной из глобальных целей развития тысячелетия. Исходя из основного постулата программы устойчивого развития общества, ее целью является создание