

Функциональная морфология микроциркулярного русла брыжейки крыс в различные сроки после воздействия электростатического поля

Научно-исследовательский центр Ереванского государственного медицинского университета имени М. Гераци

Изучено морфофункциональное состояние брыжейки крыс сразу и на 1,4 и 7 сутки после 24-х часового действия электростатического поля (ЭСП) напряженностью 200 кВ/м, длительностью 24 часа. Установлено, что наиболее выраженные изменения наблюдаются непосредственно после воздействия и спустя 7 суток, что проявляется отечностью и фибриноидными изменениями соединительнотканной основы брыжейки, уменьшением количества тучных клеток и их выраженной дегрануляцией, уменьшением в них содержания гистамина. Отмечено увеличение числа "меченых" коллоидным углем сосудов, определяемых методом прижизненного введения туши. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о волнообразном характере изменений в микроциркуляторном русле брыжейки в период после действия ЭСП.

Ключевые слова: брыжейка, тучные клетки, микроциркуляция, электростатическое поле

R.A. Dovlatyan, G.G. Artsrun

Morphofunctional characteristics of rats' mesentery on different stages after electrostatic field influence

Investigation of rats' mesentery was performed on first, fourth, and seventh days after influence of electrostatic field that has power 200 kV/m and 24 hours duration. It has been discovered that the most obvious changes were registered immediately after electrostatic field exposure and on the seventh day after it. Manifestation of electrostatic field influence was seen as distortions in structure of mesentery of connective tissue, reduction of amount of corpulent cells and their noticeable degradation, increasing of amount of "marked vessels" revealed by method of injection of colloid coal to alive animal. Increase of transparency of vessels was accompanied by decrease of histamine concentration in corpulent cells revealed by fluorometric method. Thus, the obtained results let us to state waveform changes in microcirculatory vessels in restoration period after influence of electrostatic field.

Key words: mesentery, corpulent cells, microcirculation, electrostatic field.

Ранее нами показано, что воздействие электростатического поля (ЭСП) приводит к увеличению кислородной емкости крови и облегчению отдачи кислорода тканям [2, 9]. Важнейшим звеном в цепи дыхательного цикла обеспечивающим газообмен тканей является процесс обмена газов между кровяным руслом и тканями, что, в первую очередь, зависит от структурного и функционального состояния путей микроциркуляции, так как на конечном звене терминального кровотока осуществляется транскапиллярный обмен [4, 5].

Целью представленной работы явилось исследование структурного и функционального состояния микроциркуляторного русла (МЦР) брыжейки крыс сразу и в различные сроки после действия ЭСП.

Материалы и методы

Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 0,12-0,15 кг. ЭСП напряженностью 200 кв/м создавали при помощи установки конденсатора типа с контролируемыми параметрами [1]. Объектом исследования служили плоскостные пленчатые препараты брыжейки крыс сразу и через 1, 4 и 7 суток после 24-х часового воздействия ЭСП. В качестве контроля использовали интактные крысы.

Препараты брыжейки окрашивали азур-П эозином, толуидиновым синим и пикрофуксиновой смесью по Ван-Гизону. Тучные клетки (ТК) подсчитывали в 10 полях зрения (ок.х10, об.х20). Состояние сосудистой проницаемости определяли методом прижизненного внутривенного введения коллоидного угля и последующего морфометрического анализа меченых тушью микрососудов. Через 30 минут после введения туши крыс забивали внутрибрюшинным введением 15 мл жидкости Карнуа. Нарушение проницаемости в фиксированной брыжейке оценивали по интенсивности метки и числу "меченых" микрососудов в каждом из 10 просмотренных окон брыжейки от каждого животного.

Гистамин в ТК определяли флюоресцентным методом [10] на препаратах брыжейки с использованием ортофталиевого альдегида фирмы "Serva". Количественный подсчет гистамина производили в 50 ТК на микроскопе ЛЮМАМ И-3. Методика расчетов, описание эксперимента и установки даны в работе Зильфяна А. В. [8]. Полученные данные обрабатывали статистически с применением критерия достоверности Фишера- Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что сразу после суточной экспозиции соединительнотканная основа брыжейки выглядит резко отечной, выделяются очаги мукоидного набухания и фибриноидных изменений (рис. 1 а, б). В патологический процесс вовлекалось также и артериальное звено, в микрососудах которого четко прослеживались признаки дистрофии эндотелиоцитов и плазморрагии. В отдельных участках брыжейки наблюдалась активация фибробластических процессов и формирование новых артериальных и интеркапиллярных анастомозов.

При морфометрическом анализе ТК брыжейки обнаружено уменьшение их общего количества и повышение процента дегранулированных форм почти в 3 раза по сравнению с контрольными показателями (таблица 1). Сразу после суточного воздействия процессы дегрануляции сопровождались выбросом в перикапиллярное пространство флюоресцирующих гранул, в результате чего гистамин в ТК снижался по сравнению с контрольной группой в 3,3 раза.

Спустя 1 сутки после 24-х часового воздействия ЭСП морфофункциональные изменения МЦР брыжейки крыс менее выражены, чем сразу после действия поля. Так, выявленная гиперемия и стаз терминальных сосудов, пропитывание стенок плазменными белками, очаги дистрофии эндотелиальных клеток с резким набуханием и вакуолизацией цитоплазмы эндотелиоцитов менее выражены. Периваскулярно обнаружены большие и средние лимфоциты и единичные эозинофилы. Ткань брыжейки местами была умеренно отечна, местами ишимизирована вследствие спазма артериол, тканевые базофилы встречались повсеместно, как периваскулярно, так и в отдаленных от микрососудов участках (рис. 1 в). Количественный анализ ТК с учетом степени дегрануляции выявил увеличение числа дегранулированных форм, в основном, I степени (таблица 1).

Таблица 1

Показатели функционального состояния тучных клеток брыжейки крыс после 24-х часового воздействия ЭСП

Сроки после воздействия	Количество ТК	Степень дегрануляции			Содержание гистамина в ТК (у.е.)
		I	II	III	
Интактные	28,0±1,1	17,9±0,5	6,5±0,9	3,3±0,9	22,3±0,9
Сразу	17,1±0,7*	2,6±0,4*	5,1±0,5	9,4±0,5***	6,8±0,6*
через 1 сутки	16,4±0,8*	4,4±0,3*	8,5±0,3*	3,5±0,3	14,5±0,4*
через 4 суток	24,2±0,9	14,3±0,3	7,4±6,8	3,8±0,3	18,8±0,8
через 7 суток	15,1±0,5*	2,1±0,3**	8,2±0,5*	12,5±0,5**	5,2±0,3*

В каждом эксперименте использовано по 8 животных; *p<0.05. ***p<0,005

Спустя сутки после воздействия гистамин в ткани брыжейки выявлялся как внутриклеточно, так и экстрацеллюлярно по ходу микрососудов, однако его содержание в ТК более чем в 2 раза превышало показатели, полученные сразу после воздействия (таблица 2).

Таблица 2

Показатели проницаемости микрососудов брыжейки крыс после 24-х часового воздействия ЭСП

Сроки после воздействия	Количество "меченых" сосудов	Распределение по степени проницаемости			
		I	II	III	IV
Интактные	4,0±0,4	2,2±0,3	1,2±0,1	0,7±0,1	0
Сразу	35,2±1,1*	4,5±0,1**	5,5±0,4*	12,2±0,6*	13,0±1,3*
через 1 сутки	16,2±0,9*	2,5±0,2	4,0±0,2*	4,5±0,2*	5,2±0,5*
через 4 суток	8,8±0,5*	2,3±0,1	2,3±0,2	3,4±0,5**	3,5±0,8**
через 7 суток	37,2±0,1*	3,2±0,3*	5,2±0,3*	12,7±0,7*	15,8±0,6**

В каждом эксперименте использовано по 8 животных; *p<0.05. ***p<0,005

К 4-м суткам после действия ЭСП имело место заметное восстановление структурных и функциональных параметров МЦР брыжейки крыс. Через 7 суток после действия ЭСП на фоне отечности и ишемии ткани брыжейки подопытных крыс вновь отмечались выраженные изменения в МЦР, что проявлялось гиперемией и стазом терминальных сосудов, пропитыванием стенок плазменными белками. В эндотелии сосудов выявлялись очаги дистрофии эндотелиальных клеток с резким набуханием и вакуолизацией цитоплазмы эндотелиоцитов (рис. 1г). Одновременно наблюдались пролиферативно-репаративные процессы, которые выражались диффузной активацией клеток фибробластического ряда, формированием артериоловеноулярных и межкапиллярных анастомозов. ТК встречались повсеместно как периваскулярно, так и в отдаленных от микрососудов участках. Количественный анализ ТК выявил увеличение числа дегранулированных форм, в основном, III степени (таблица 1).

Оценка степени сосудистой проницаемости, помимо морфологических критериев, проводилась также при помощи функционального теста. Как видно из таблицы 2 сразу после 24-х часового воздействия ЭСП общее содержание "меченых" сосудов увеличено в 9 раз.

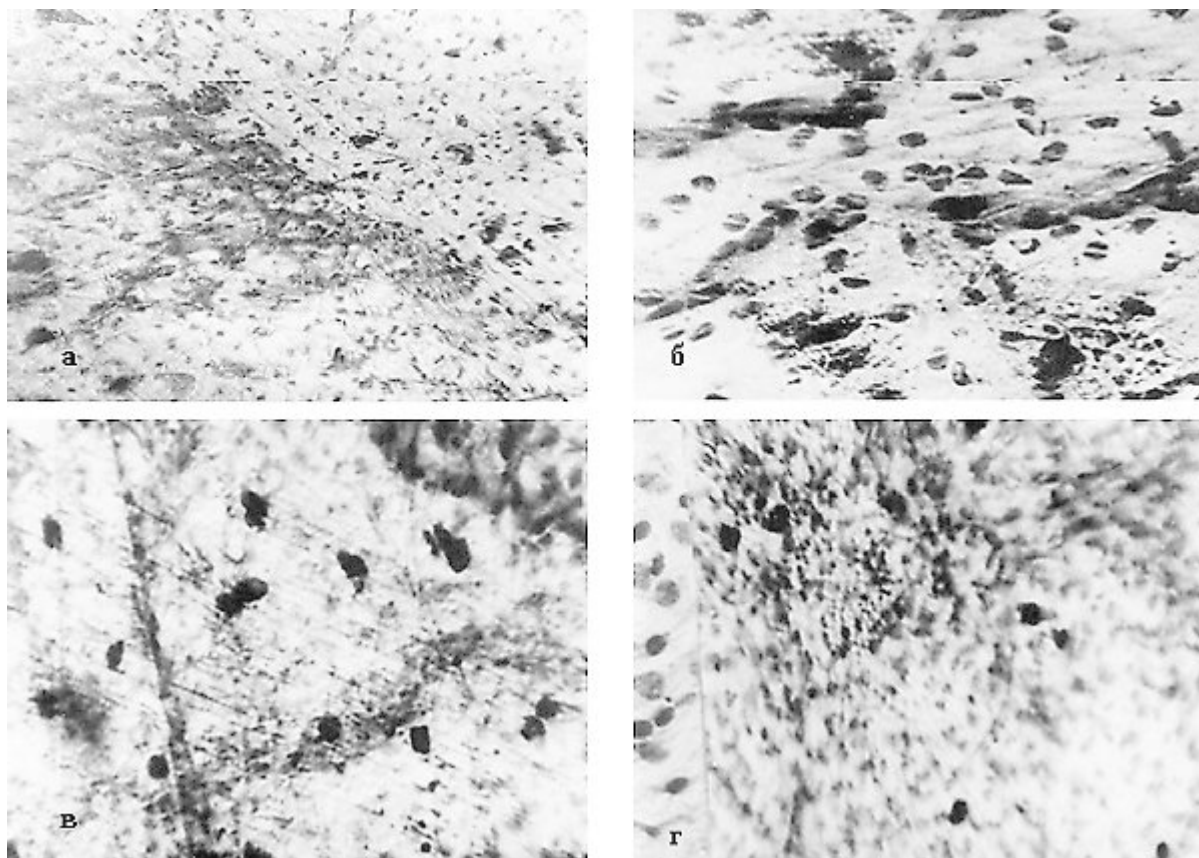


Рис. 1.

а. Брыжейка intactных крыс. Окраска азур-2 эозином. Об.х20, ок. х10.

б. Брыжейка крыс после 24-х часового воздействия ЭСП. Окраска азур-2 эозином. Об.х20, ок.х10.

в. Брыжейка крыс спустя сутки после 24-х часового воздействия ЭСП. Окраска азур-2 эозином. Об.х20, ок.х10.

г. Брыжейка крыс на 7-ые сутки после 24-х часового воздействия ЭСП. Окраска азур-2 эозином. Об.х20, ок.х10.

При внутривенном введении туши intactным крысам выявлялись лишь отдельные микрососуды, отнесенные к меткам I и II степени. В опытных группах доминировали микрососуды с резко выраженной проницаемостью, что проявлялось диффузным отложением на их поверхности туши, в основном, с преобладанием микрососудов, отмеченный метками III и IV степени (рис. 2).

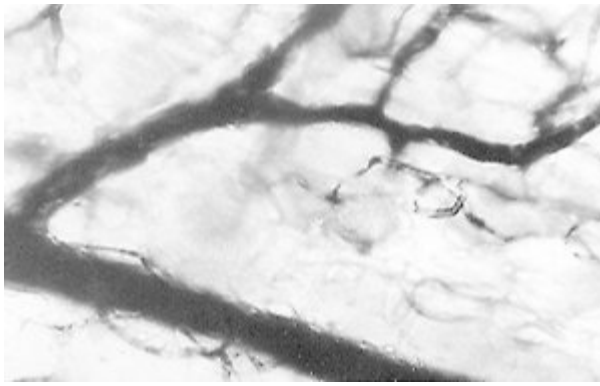


Рис. 2. Диффузное отложение корпускул туши на поверхности микрососудов. Об.х40, ок.х10.

Проведенными исследованиями установлено, что 24-х часовое воздействие внешнего ЭПС напряженностью 200 кВ/м приводит к изменениям в системе МЦР, путем вовлечения в процесс как экстра-, так и интраваскулярных факторов регуляции транскапиллярного обмена, а степень изменений зависит от сроков последствия изучаемого фактора.

Выявленные сразу после воздействия изменения по своим морфологическим и функциональным проявлениям идентичны изменениям, наблюдаемым при различных экстремальных ситуациях [3, 6, 7], и укладываются в обычную неспецифическую ответную реакцию организма на внешнее воздействие. Однако анализ данных в различные сроки последствия указывает на то, что максимальные изменения наблюдаются сразу после воздействия, через 1 и 4 суток имеет место частичное восстановление, а некоторые параметры не отличаются от контроля. Однако сразу после воздействия и на 7-е сутки после него, практически все исследованные параметры отклоняются от контрольных показателей в одинаковой степени (таблицы 1, 2). Эти данные позволяют предположить, что помимо изменений, регистрируемых сразу после воздействия, в системе МЦР возникают еще и скрытые долгоживущие изменения, которые проявляются через определенные сроки после действия изучаемого фактора.

1. Арцруни Г.Г. Установка для изучения воздействия электростатических полей на биообъекты//Конф. молодых ученых, посвящ. XXV съезду КПСС. - Ереван, 1975 - С. 32-33.

2. Арцруни Г.Г. К вопросу о действии электростатического поля на процессы биологического окисления // Вопросы биологии. - 1984. - Вып. 3. - С. 19-25.

3. Авакян Л.А., Саакян А.Г. Ультраструктурная характеристика капилляров брыжейки крыс при введении лимфоцитарных медиаторов//В сб.: "Роль лимфоцитарных медиаторов в становлении общего адаптационного синдрома". - Ереван, 1993. - С. 36-38.

4. Березовский А.Н.//В кн. "Напряжение O₂ в тканях животных и человека"//Киев: "Наукова Думка", 1975. - 260 с.

5. Бржевка О.Н., Коюнин Л.П. и соавт. Исследование свободнорадикальных состояний при процессах дыхания и фосфорилирования в митохондриях//Биофизика. - 1966. - 11(6). - С. 1076-1082.

6. Горизонтова М. П., Алексеев О. В., Чернух А. М. Роль тучных клеток в нарушениях сосудистой проницаемости у крыс при иммобилизационном стрессе//Бюлл. exper. биол. - М., 1975. - Т. 79. - № 3. - С. 22-24.

7. Горизонтова М. П. Микроциркуляция при стрессе//Пат. физ. и экспер. терапия. - 1986. - № 3. - С. 79-85.
8. Зильфян А.В. Морфофункциональная характеристика микроциркуляторного русла инфицированных *Mycoplasma arthritidis* крыс // В сб.: "Актуальные вопросы микоплазматологии". - Ереван: "Айастан", 1983. - С. 5-10.
9. Пирузян Л.А., Арцруни Г.Г., Романов Г.В., Кутузов А.Д. Воздействие электростатического поля на оксигемоглобин белых беспородных мышей//Известия АН СССР. Серия биологическая. - 1974. - № 4. - С. 597-599.
10. Falck B., Omenl A. A detailed methodological description of the fluorescence method for the cellular demonstration of biogenic monoamines//Acta Univ. Lond. Sec. 2. - 1965. - 11(2). - P. 5-23.