

VARIANT ANATOMY OF THE ANTERIOR TIBIAL VEINS AND ITS CLINICAL IMPLICATIONS

A.G. Pavlov, S.A. Sushkov and A.K. Usovich

Variant anatomy of the anterior tibial veins (ATV) was studied using 22 preparations of the lower extremities of men and . The great variability of the ATV anatomic patterns was established, which was characterized by the presence of numerous anastomoses between the main trunks and lengthy regions of duplication, creating an impression of a larger number of venous trunks. In most specimens, ATV were observed to originate as two main trunks. In 34% of cases veins had a scattered pattern. Perforating veins of the anterior musculofascial compartment penetrated

the fascia in two main directions. Most frequently perforators appeared at the border between the lower and the middle thirds of the calf and between the upper and the middle thirds, their frequency amounting to 18.1% at both levels. In 45.5% of the samples, the tributaries were found that connected ATV with deep venous system of the back of the calf. The results obtained allow to plan the interventions on perforators of the anterior musculofascial compartment and ATV.

Key words: anterior tibial veins, perforating veins, anastomoses, musculofascial compartment.

Department of General Surgery and Department of Human Anatomy, Vitebsk State Medical University, Belorussia

© В.Г. Скопичев, О.О. Смирнова, 2010
УДК 616.15-099

В.Г. Скопичев и О.О. Смирнова

ЭХИНОЦИТОЗ И ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ МАССЫ ПРИ ЭНДО- И ЭКЗОГЕННЫХ ИНТОКСИКАЦИЯХ

Кафедра физиологии (зав. — проф. В.Г. Скопичев), Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины; e-mail: rascivik@yandex.ru, fisiology@yandex.ru

Цель работы — установление взаимосвязи между повышением концентрации в сыворотке крови молекул средней массы (МСМ) и эхиноцитозом, частоты появления в крови эхиноцитов при интоксикациях эндогенной и экзогенной природы, а также зависимости между дозой фосфакола, карбофоса или степенью эндогенной интоксикации и эхиноцитозом. Проведены 2 серии исследований. В 1-й серии опыты выполняли на беспородных белых крысах. Крысам 1-й группы вводили фосфакол в дозе 0,5, 5, 0, 50 ЛД₅₀; крысам 2-й группы — карбофос в дозе 0,1 и 1,0 ЛД₅₀. Во 2-й серии изучали кровь кошек с хронической почечной недостаточностью на стадии уремии (пример эндогенной интоксикации). У всех животных определяли концентрацию МСМ в сыворотке крови, относительное содержание эхиноцитов и проводили их электронно-микроскопическое исследование. Оценивали способность МСМ оказывать влияние на деформацию эритроцитов. Отмечено увеличение концентрации МСМ и доли эхиноцитов в соответствии с усилением выраженности интоксикации, увеличение относительного содержания эхиноцитов в крови кошек под действием МСМ.

Ключевые слова: интоксикация, молекулы средней массы, эхиноциты.

Молекулы средней массы (МСМ) причисляют к веществам белковой природы, а также производным олигоспиртов и глюкуроновой кислоты, не осаждаемых трихлоруксусной кислотой, и по этой причине могущих быть отнесенными к компонентам остаточного азота. Для многих видов интоксикаций характерно нарушение функционирования протеазной и антипротеазной систем. Основная часть МСМ представлена полипептидами с молекулярной массой 300–5000 дальтон, образующимися в результате активации протеолиза. Эта фракция включает в себя гормоны, нейропептиды, медиаторы иммунного ответа и

многие другие продукты белкового обмена, в целом определяющие высокую биологическую активность МСМ [4].

Ранее в результате исследования МСМ было установлено повышение их содержания в плазме крови при различных патологических состояниях, сопровождающихся интоксикацией разной степени тяжести. Стойкое увеличение МСМ в крови до предельно высоких значений, как правило, соответствует развитию терминальных состояний. При хронической почечной недостаточности одной из причин повышения содержания МСМ

может быть недостаточность полного их катаболизма [12].

МСМ оказывают угнетающее и повреждающее действие на многие клетки, ткани и органы [4].

МСМ взаимодействуют с клеточными рецепторами и липидными мембранными структурами и делают мембраны более доступными для повреждающих воздействий, например процессов перекисного окисления липидов [4, 12].

Изменения формы эритроцитов можно наблюдать при нарушении физико-химических свойств крови и метаболизма её клеток. Установлены факты уменьшения числа нормоцитов (дискоцитов) и соответственного увеличения количества циркулирующих в крови эхиноцитов при экзотоксикозах, неспецифических заболеваниях, туберкулезе легких [5, 6].

Эхиноциты образуются при кренировании (т.е. образовании зубцов на плазмолемме) с различной степенью формирования выростов, которые впоследствии отпадают, при этом показано нарушение структуры и количества цитоскелетных белков. Происходит стабилизация опорных компонентов цитоскелета и активизация сократительных элементов, образование перекрестных сшивок между спектрином и гемоглобином [3], уплотнение цитоскелетной структуры [11]. Мембранный материал теряется путем микровезикуляции [1].

Нормальные эритроциты способны значительно деформироваться для прохождения по микроциркуляторному руслу [14, 17]. Появление шипов на мембране и содержание в эхиноцитах на 50–70% больше холестерина, чем в норме, обуславливает снижение способности к деформации [13]. При эхиноцитарной трансформации существенно меняется и заряд поверхностной мембраны эритроцитов, который является необходимым условием для поддержания стабильности суспензии эритроцитов—плазма. Эхиноцитоз влечёт за собой агрегацию эритроцитов, является одной из причин нарушения кровообращения [14–16]. Например, отравление фосфорорганическими соединениями (ФОС) протекает как экзотоксический шок, наблюдаются изменения артериол, капилляров и венул, конгломераты эхиноцитов закупоривают дистальные участки кровеносного русла, что способствует централизации кровообращения [9].

Цель настоящей работы — выявление взаимосвязи между повышением концентрации в сыворотке крови МСМ и эхиноцитозом, установление частоты появления в крови эхиноцитов при интоксикациях эндогенной и экзогенной природы, а также зависимости между дозой фосфакола,

карбофоса или степенью эндогенной интоксикации и эхиноцитозом.

Материал и методы. Для изучения изменения содержания МСМ и эхиноцитоза при эндогенной и экзогенной интоксикации проведены 2 серии исследований.

Первая серия экспериментов была выполнена на беспородных белых крысах-самцах массой 189–250 г. Подопытным крысам внутримышечно вводили фосфакол: группе 1а — в дозе 0,5 ЛД₅₀ (ЛД₅₀=0,92±0,12 мг/кг, n=5); группе 1б — в дозе 5,0 ЛД₅₀, (n=5); в группе 1в — в дозе 50 ЛД₅₀, (n=5). Контролем служили интактные животные (n=5). У всех подопытных животных первый раз кровь брали из хвостовой вены через 15 мин после появления клинических признаков, характерных для отравления фосфаколом при его введении в дозе ЛД₅₀, второй — через 2 ч (время, в течение которого длится судороги при введении фосфакола в дозе ЛД₅₀).

Крысам двух других групп внутривенно вводили коммерческий 47,4% раствор карбофоса: группе 2а — в дозе 1/10 ЛД₅₀ (ЛД₅₀=1000±25 мг/кг, n=5); группе 2б — в дозе 1 ЛД₅₀ (n=5). Контролем служили интактные животные (n=5). У всех животных первый раз кровь брали из хвостовой вены через 2 мин после появления клинических признаков отравления, второй — через 5 мин, третий — через 10 мин. Работа проведена в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР).

Для выполнения электронно-микроскопических исследований эритроцитов каплю крови помещали в бюкс, заполненный 1,5% раствором глутаральдегида, приготовленном на растворе Хенкса. Через 30 мин, после осаждения эритроцитов на покровном стекле, их отмывали раствором Хенкса и обезвоживали в этаноле возрастающей концентрации (до 100%). Окончательную сушку образцов осуществляли переходом критической точки CO₂ в аппарате HCR-2 Hitachi — H-300 (Япония). После напыления золотом в ионном напылителе образцы просматривали в сканирующем электронном микроскопе Hitachi — H-300 (Япония), при ускоряющем напряжении микроскопа 20 кВ. С помощью светового микроскопа МКУ-1 (Россия) определяли относительное содержание эхиноцитов в каждой пробе.

Для определения содержания МСМ в сыворотке крови использовали скрининговый метод [4].

Оценку статистической значимости полученных цифровых данных проводили по t-критерию Стьюдента.

Во второй серии исследований для определения эхиноцитоза при эндогенной интоксикации изучали кровь кошек с диагнозом хроническая почечная недостаточность (ХПН) на стадии уремии. Исследуемые животные были разделены на 3 группы в зависимости от концентрации в сыворотке крови креатинина (маркера уремии): 1-я группа — 160 (верхняя граница нормы)—250, 2-я — 250–450, 3-я — 450 ммоль/л и более. В каждой пробе крови больных животных определяли относительное содержание эхиноцитов с помощью светового микроскопа МКУ-1 (Россия). В 1-ю группу вошли 4 кошки в возрасте 5–8 лет, во 2-ю — 4 кошки в возрасте 5–14 лет, в 3-ю — 4 кошки в возрасте 7–14 лет. В качестве контрольных образцов исследована кровь 4 клинически здоровых кошек. Также было определено содержание МСМ в сыворотке крови каждой кошки.

Для определения способности МСМ оказывать влияние на деформацию эритроцитов была приготовлена сыворотка крови 5 кошек с диагнозом ХПН на стадии уремии.

Полученную из неё надосадочную жидкость использовали для определения содержания МСМ и добавляли к крови клинически здоровых кошек со средним содержанием МСМ 0,458. Относительное содержание эхиноцитов подсчитывали через 30 мин и через 1 ч после добавления надосадочной жидкости.

Результаты исследования. Морфологические исследования рельефа поверхности эритроцитов показали, что в контрольных образцах 1-й серии опытов они имеют типичную форму дискоцитов. После отравления фосфаколом и карбофосом наблюдали большое количество деформированных эритроцитов преимущественно в виде эхиноцитов, характеризующихся склонностью к агрегации.

Применение фосфакола в дозе 0,5 ЛД₅₀ приводит к существенному изменению формы эритроцитов, которое сопровождается нарушением рельефа их поверхности, образованием на ней выростов и значительным уменьшением объёма эритроцитов.

При введении фосфакола в дозе 5 ЛД₅₀ возникает набухание эритроцитов, которое компенсирует их сжатие. При этом нарушается рельеф поверхности эритроцитов, формируются гребни, наблюдается отшнуровывание клеточного материала.

Наибольшая деформация эритроцитов выражена при максимальных дозах фосфакола (50 ЛД₅₀). При этом можно наблюдать образование значительных по размерам (до 2–3 мкм) выростов на поверхности эритроцитов, а кренирование в сочетании с нарушением стромы приводит к их последующему разрушению (рис. 1).

Доля эхиноцитов при введении фосфакола через 15 мин после появления клинических признаков отравления составила: в группе 1а — 37,0±2,8%, в группе 1б — 51,0±2,4%, в группе 1в — 53,0±1,4%; через 2 ч — 43±4, 49,0±1,5, 64±4% соответственно, в контрольной группе — 3,4±0,7%.

Доля эхиноцитов при введении карбофоса (рис. 2) через 2 мин после появления клинических признаков отравления составила: в груп-

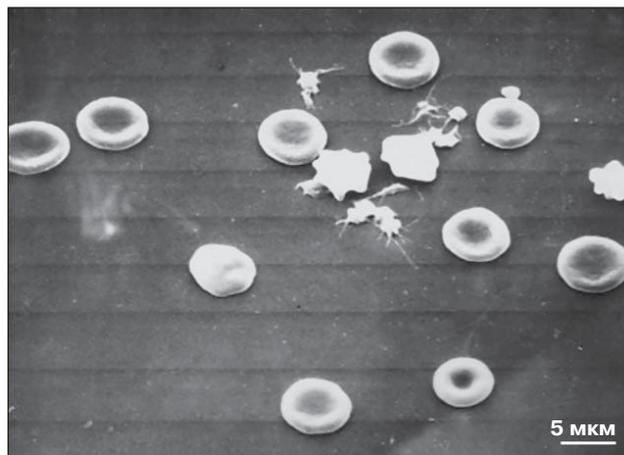


Рис. 1. Эхиноциты крысы через 15 мин после введения фосфакола в дозе 50 ЛД₅₀.

Сканирующая электронная микроскопия.

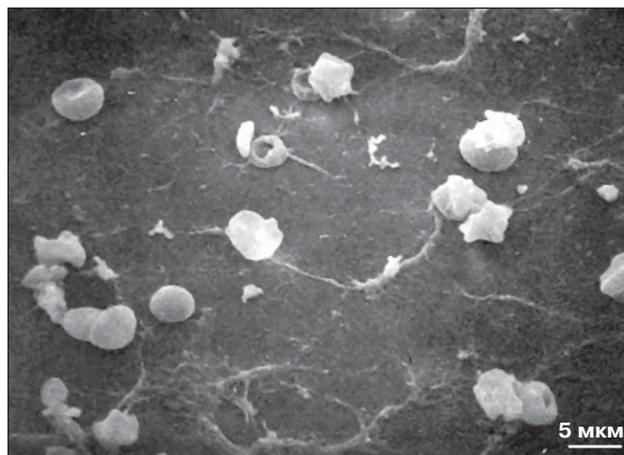


Рис. 2. Эхиноциты и продукты деструкции мембран у крысы через 10 мин после введения карбофоса в дозе 1 ЛД₅₀.

Сканирующая электронная микроскопия.

пе 2а — 25,0±2,5%, в группе 2б — 52,0±2,5%; через 5 мин — 43±4, 55±4% соответственно; через 10 мин — 50,0±2,9, 60±4% соответственно, в контрольной группе — 2,50±0,25%.

Результаты определения концентрации МСМ представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 2

Содержание молекул средней массы в сыворотке крови после введения карбофоса ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, усл.ед.)

Время от момента введения карбофоса, мин	Доза карбофоса	
	$1/10$ ЛД ₅₀	1 ЛД ₅₀
2	0,64±0,05	0,72±0,05
5	0,70±0,05	0,74±0,06
10	0,74±0,05	0,87±0,06

Примечание. В контроле — у интактных животных 0,45±0,05 усл. ед.

Таблица 1

Содержание молекул средней массы в сыворотке крови после введения фосфакола ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, усл.ед.)

Время от момента введения фосфакола	Доза фосфакола		
	0,5 ЛД ₅₀	5,0 ЛД ₅₀	50 ЛД ₅₀
15 мин	0,50±0,06	0,65±0,06	0,79±0,06
2 ч	0,61±0,06	0,83±0,06	0,90±0,07

Примечание. В контроле — у интактных животных 0,43±0,05 усл. ед.

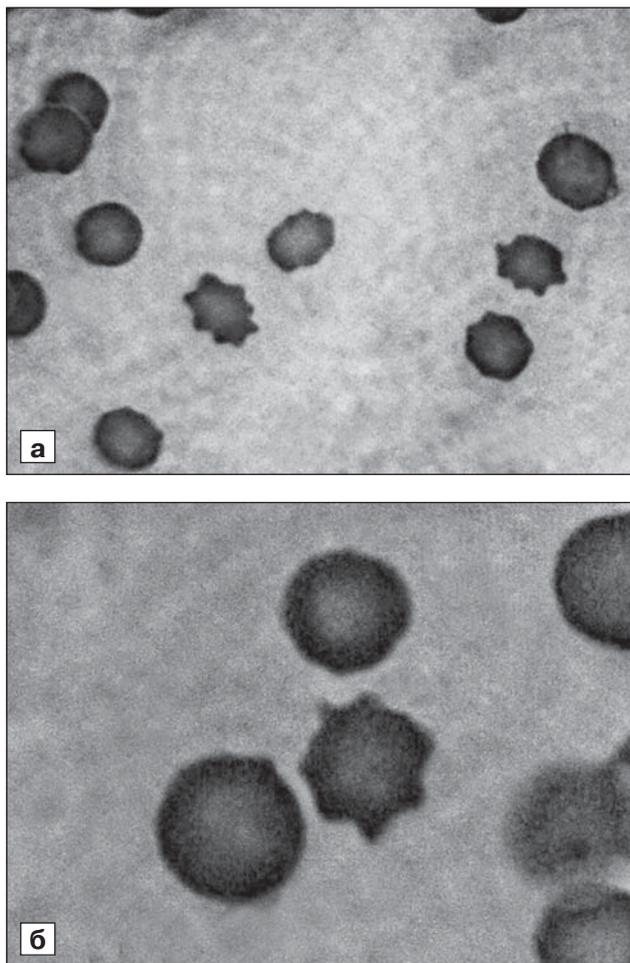


Рис. 3. Эхиноциты в мазке крови кошки при хронической почечной недостаточности.

а — 2-я группа; б — 3-я группа. Окраска гематоксилином-эозином. а — об. 90, ок. 22; б — об. 90, ок. 45.

Доля эхиноцитов в крови кошек с диагнозом ХПН (рис. 3, а, б): в 1-й группе — $9,84 \pm 1,0\%$, во 2-й группе — $13,6 \pm 1,4\%$, в 3-й группе — $18,5 \pm 2,9\%$, в контрольной группе — $2,90 \pm 0,20\%$. Концентрация МСМ в 1-й группе — $0,49 \pm 0,05$ усл. ед., во 2-й группе — $0,59 \pm 0,06$ усл. ед., в 3-й группе — $0,81 \pm 0,07$ усл. ед., в контрольной группе — $0,44 \pm 0,05$ усл. ед.

По данным световой микроскопии, при эндоинтоксикациях эритроцит значительно уменьшает свой объём и на поверхности приобретает острые выросты, характерные для эхиноцитов.

Доля эхиноцитов в крови здоровых животных после добавления надосадочной жидкости, содержащей МСМ в повышенной концентрации, составила в контрольной группе $5,0 \pm 0,8\%$, через 30 мин после начала опыта — $11,5 \pm 0,07\%$, через 1 ч — $16,0 \pm 1,5\%$.

Обсуждение полученных данных. Анализ деформации эритроцитов при экзо- и эндогенных интоксикациях позволил выявить их общий признак — изменение формы с преобладанием эхиноцитов. Наряду с эхиноцитами, наблюдаются и клетки, в которых, по-видимому, произошла деградация цитоскелетных образований — стоматоциты (но их количество по сравнению с числом эхиноцитов незначительно).

Установлена зависимость между дозами фосфакола и карбофоса или степенью уремии и процессами эхиноцитоза. С помощью электронной микроскопии выявлена трансформация дискоцитов в эхиноциты, обусловленная изменениями в цитоскелете и плазмолемме эритроцитов.

Степень тяжести отравления оценивалась по изменению формы эритроцитов и другими исследователями. Была отмечена деформация эритроцитов и эндотелиоцитов микрососудов при отравлении крыс и мышей ФОС [7, 8]. Сочетание деформации и агрегации эритроцитов с изменением клеток эндотелия приводит к тяжёлому расстройству микроциркуляции крови. Показано, что при отравлении крыс фосфаколом в дозе 1 ЛД₅₀ наблюдаются эхиноцитоз и резкое замедление тока крови в микрососудах, вплоть до стаза [9]. При введении подопытным крысам фосфакола в микродозе ($0,01$ ЛД₅₀) были обнаружены анизоцитоз с преобладанием эритроцитов малого размера, звёздчатой формы, очаги агглютинации эритроцитов с последующим их гемолизом. Увеличение инъектируемой дозы фосфакола приводило к появлению в крови значительного количества звёздчатой формы эритроцитов и их агглютинации. Происходили изменения поверхности и размеров эритроцитов [10]. При использовании рег ос карбофоса в виде $47,2\%$ раствора в 10% этаноле в дозе 1000 мг/кг количество эхиноцитов через 2 мин после наступления признаков острого отравления составляло 60% , через 5 мин — 55% , через 10 мин — 52% [2].

В настоящем исследовании отмечено увеличение концентрации МСМ в сыворотке крови животных в соответствии со степенью интоксикации. Также замечена корреляция между дозой фосфакола, карбофоса, степенью уремии при ХПН и повышением содержания МСМ. Ранее было отмечено, что увеличение концентрации МСМ в биологических жидкостях наблюдается при всех патологических состояниях, сопровождающихся эндогенной интоксикацией, и тесно коррелирует со степенью ее выраженности. Показано, что на ранних стадиях эндогенной интоксикации содержание МСМ возрастает по сравнению с нормой

в среднем на 20–30%, на средней стадии — на 100–200%, а на поздних — на 300–400% [13].

При воздействии на кровь клинически здоровых животных сывороткой с повышенной концентрацией МСМ было обнаружено увеличение относительного содержания эритроцитов в мазке крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бархина Т.Г., Никитина Г.М., Бархина М.М. и Черных А.С. Патология мембран форменных элементов крови при заболеваниях в экспериментах. Успехи современного естествознания, 2006, № 6, с. 64–66.
2. Жичкина Л.В. Физиологическое обоснование методов детоксикации: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2006.
3. Иржак Л.И. Состав и функции крови. Соросовский образовательный журн., 2001, № 2, с. 11–19.
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. Т. 1, 2-е изд. Минск, Интерпрес-сервис, 2003.
5. Мальцева Л.А. и Мальцев И.А. Актуальные вопросы медицины и биологии. Днепропетровск, изд. Днепропетровск. гос. мед. акад., 1997, вып. 9, с. 241.
6. Панченкова О.А. Защитное действие нового антидота на основе карбоксима при отравлении ФОС: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2009.
7. Прозоровский В.Б., Скопичев В.Г. и Медведева С.В. Участие дистантного холинергического механизма в реакции сосудистого русла на интоксикацию фосфорорганическими ингибиторами холинэстеразы. Морфология, 2000, т. 118, вып. 4, с. 66–69.
8. Скопичев В.Г. и Прозоровский В.Б. Выявление наличия холинэстеразы в эндотелиоцитах и её торможение фосфорорганическими соединениями как причина деформации эндотелиоцитов. Экспериментальная и клиническая фармакология, 2005, т. 68, № 3, с. 64–67.
9. Скопичев В.Г., Прозоровский В.Б., Жичкина Л.В. и Панченкова О.А. Основные принципы детоксикации при воздействии фосфорорганических соединений (ФОС). Международный вестн. ветеринарии, 2006, № 3–4, с. 28–38.
10. Скопичев В.Г. и Эйсымонт Т.А. Клеточные механизмы липидного обмена в лёгких в условиях блокады ацетилхолинэстеразы. В кн.: Материалы научной международной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов. СПб., Изд-во СПбГАВМ, 2003, с. 87–89.
11. Стародубцева М.Н., Кузнецова Т.Г. и Егоренков Н.И. АСМ-исследование эритроцитов, кренированных активными формами азота. В кн.: Методологические аспекты сканирующей зондовой микроскопии. VII Международный семинар: Сб. докл. Минск, изд. ИТМО НАН Беларуси, 2006, с. 148–152.
12. Чаленко В.В. Возможные причины повышения концентрации молекул средней массы при патологии. Патологическая физиология, 1991, № 4, с. 13–14.
13. Agroyanis W., Tzanatos B., Retsa K. et al. Влияние L-карнитина на атипичные эритроциты у уремиических пациентов, находящихся на гемодиализе. Dialysis & Transplantation, 2005, v. 34, № 9, p. 28–32.
14. Banerjee R., Nageshwari K. and Puniyani R.R. The diagnostic relevance of red cell rigidity. Clin. Hemorheol. Microcirc., 1998, v. 19, № 1, p. 21–24.
15. Linderkamp O., Ruef P., Brenner B. et al. Impaired deformability of erythrocytes and neutrophils in children with newly diagnosed insulin-dependent diabetes mellitus. Diabetologia, 1999, v. 42, № 7, p. 865–869.
16. Parthasarathi K. and Lipowsky N.N. Capillary recruitment in response to tissue hypoxia and its dependence on red blood cell deformability. Am. J. Physiol., 1999, v. 277, № 6, Pt. 2, p. H2145–2157.
17. Van Gelder J.M., Nair C.H. and Dhall D.P. Erythrocyte aggregation and erythrocyte deformability modify the permeability of erythrocyte enriched fibrin network. Thromb. Res., 1996, v. 1, № 82, p. 33–42.

Поступила в редакцию 24.06.09

Получена после доработки 25.12.09

ECHINOCYTOSIS AND CHANGES OF MEDIUM WEIGHT MOLECULES CONTENT IN ENDO- AND EXOGENOUS INTOXICATIONS

V.G. Skopichev and O.O. Smirnova

The purpose of this study was to detect the interrelationship between the increased serum concentration of the medium weight molecules (MWM) and echinocytosis, to establish the rate of echinocyte appearance in blood in endogenous and exogenous intoxications and the dependence of echinocytosis on phosphacol and carbophos doses or the degree of endogenous intoxication. Two series of studies were conducted. In the 1st series, the experiments were conducted on outbred albino rats. Rats of the 1st group received phosphacol in doses equal to 0.5, 5.0 and 50 LD₅₀, while the rats of the 2nd group were given carbophos in doses equal to 0.1 and 1.0 LD₅₀. In the 2nd series, the blood of cats with chronic renal failure at uremic stage was studied (as an example of endogenous intoxication). In all the animals, serum MWM concentrations were measured together with the relative echinocyte content and echinocytes were examined with electron microscope. The ability of MWM to influence erythrocyte deformation was evaluated. Increased MWM concentrations and echinocyte content was found in association with the increase of intoxication severity, while echinocyte percentage in cats' blood was augmented under the action of MWM.

Key words: *echinocytes, intoxication, medium weight molecules.*

Department of Physiology, St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine