

УДК 616-092.9

НАРУШЕНИЯ ЭЛЕКТРОЛИТНОГО ОБМЕНА В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ ДЕГИДРАТАЦИИ И ГИПЕРГИДРАТАЦИИ

¹ Дергунов А.В., ² Хмара В.М., ³ Гусев Г.П.

¹ Военно-Медицинская Академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

² Северо-Западный Государственный медицинский университет им.

Мечникова, Санкт-Петербург, khmarav.m@mail.ru

³ Институт Экспериментальной Физиологии и Биохимии им. И.М. Сеченова, Санкт-Петербург

Диагностика нарушений гомеостаза воды и электролитов в организме человека и их коррекция были проведены в эксперименте на животных. Исследовалось содержание воды, натрия и калия в сыворотке крови и тканях у крыс в условиях дегидратации и гипергидратации. Опыты выполнялись на животных массой 250-300 гр. По результатам эксперимента можно прийти к выводу, что концентрация белка в плазме крови (но не гематокрит) является показателем сгущения или разбавления крови, и отражает состояние водного баланса организма. Наиболее адекватным показателем нарушения водно-электролитного баланса организма могут служить изменения состава скелетной мышцы. При этом водно-электролитный состав тканей головного мозга, несмотря на выраженные нарушения водного баланса организма, остаётся неизменным. Отёк мозга в эксперименте обычно вызывается травмой, ишемией или токсинами.

Ключевые слова: водно-электролитный баланс, дегидратация, гипергидратация

Введение

Диагностика нарушений гомеостаза воды и электролитов в организме человека и их коррекция представляют значительный интерес для клинической практики в связи с применением инфузионной терапии [2, 5, 6]. В большинстве исследований при нарушениях водно-электролитного баланса, связанных с недостатком или избытком воды в организме, изучались изменения ОЦК, внеклеточной жидкости и их ионного состава. Значительно меньше внимания уделялось изменению электролитного состава тканей в условиях ДГ и ГД [8, 10]. Такие данные могут быть получены, главным образом, в эксперименте на животных. В ряде работ выявлялись изменения содержания воды и ионов в отдельных органах, но практически отсутствуют данные одновременного исследования ионного состава жизненно-важных органов при нарушениях водно-электролитного баланса организма [13, 17].

В настоящей работе изучалось содержание воды, натрия и калия в сыворотке крови и различных тканях (сердца, скелетной мышцы, лёгкого, печени, головного мозга) у крыс в условиях ДГ и ГД.

Методика

Исследование выполнено на базе кафедр патологической физиологии и патологической анатомии, лаборатории электронной микроскопии и гистохимии. Экспери-

ментальная часть работы была проведена на 75 белых беспородных крысах (*Rattus*) массой 240-390 г. Для создания модели дегидратации, первой группе из 12 крыс было внутрибрюшинно введено 0,15 мл лазикса, и затем они на одни сутки были оставлены при комнатной температуре без воды и пищи. Через сутки проведено клиническое обследование животных и их безболезненное выведение из опыта путем декапитации под эфирным наркозом.

Питание и условия содержания лабораторных животных были стандартные. Контрольные животные отбирались методом случайного отбора.

Во второй группе животных (12 крыс) было введено внутрибрюшинно также 0,15 мл лазикса, а затем они были помещены в условия повышенной температуры (в термостат, настроенный на 30 °С). Через 48 часов проведено клиническое обследование животных, после чего изучены изменения клинических параметров и проведено выведение животных из опыта. Двум другим группам животных для создания модели ГД исключали функцию почек, для чего под эфирным наркозом перевязывались почечные ножки с двух сторон. Третьей группе животных (18 крыс), после перевязки почечной ножки, вводили 0,9% раствор NaCl в объеме 15% от массы тела. Жидкость вводили дробно тремя порциями с интервалом

в 1 час через зонд в желудок. Через сутки животные выводились из опыта. Четвертой группе животных (18 крыс) после выключения функции почек дробно через желудочный зонд (с интервалов в 1 час тремя порциями) введен 5% раствор глюкозы в объеме 15% от массы тела. Выведение животных проводилось так же через сутки. 10 животных использовались в качестве контроля, они были взяты из той же партии крыс, что и использованные в опыте, содержались в тех же условиях и выводились по 2-3 животных с каждой из групп, использованных в опыте. Животных всех групп взвешивали до и после начала эксперимента, в плазме крови им определяли содержание белка, электролитов (калия и натрия), а так же гематокрит. Кровь у животных для исследования бралась из уха или хвоста, чаще надрезом, в отдельных случаях пункцией вен. Посмертно кровь брали путем пункции сердца. Животных в эксперименте не фиксировали.

Гистологические исследования

Материал для гистологических исследований в эксперименте брали по стандартной методике, сразу после смерти животных, оценивали визуально, затем осуществляли фиксацию в растворе формалина. Во всех группах были исследованы следующие органы и ткани: скелетная мускулатура (мышцы, бедра), печень, легкие, миокард правого и левого желудочков сердца, кора и белое вещество головного мозга. Проводилось макро- и микроскопическое исследование. Для микроскопического исследования фрагменты тканей и органов фиксировали в 10% нейтральном формалине, затем после проводки через серию спиртов и хлороформов заливали в парафин. С парафиновых блоков были приготовлены срезы толщиной 7-8 микрон, которые в дальнейшем окрашивали гематоксилином и эозином по методам Ван-Гизона и Ниссля [15, 24].

Лабораторные исследования

Содержание воды в тканях определялось методом высушивания. После высушивания пробы охлаждались в эксикаторе до комнатной температуры и взвешивались. Затем от полученных при взвешивании результатов вычитали массу фольги и получали влажную и сухую массы пробы, по разнице влажной и сухой масс определяли абсолютное количество воды.

Для обезжиривания высушенные пробы ткани вместе с фольгой на сутки опускались в пробирку с 30-40 мл петролейного эфира или гексана. Затем пробу досушива-

ли 2-3 часа при температуре 105 °С и взвешивали. По разнице между массой сухого и сухого обезжиренного вещества рассчитывали количество жира в пробе.

Определение содержания электролитов в пробах производилось после их экстракции раствором соляной кислоты на пламенном фотометре Flaho-4. Полученный результат пересчитывался в мкмоль электролита в данном растворе, затем, в зависимости от степени разведения, рассчитывалось абсолютное содержание его в пробе.

Результаты исследования

Степень ДГ и ГД крыс можно оценить по изменению массы животных. Контрольная группа, имевшая свободный доступ к воде, но не получавшая пищи, теряла в течении первых суток 4,5 % исходной массы тела. За двое суток потери составили 6,2%. Следовательно, действительные потери воды из организма у дегидратированных животных составили 6-7 мл на 100 г массы тела. После инъекции крысам Лазикса за 3 часа выделялось в среднем $4,2 \pm 0,4$ мл на 100 г массы мочи. Введение диуретика обеспечивало 50-70 % от общей потери воды из организма у этих групп животных. Реальный уровень ГД с учётом потерь массы у контрольных крыс не отличался от введённых 15 мл жидкости на 100 г массы тела.

У двух контрольных групп крыс не получавших пищи в течении суток не наблюдалось различий в содержании ионов и воды в сыворотке крови и тканях. Поэтому данные, полученные при исследовании интактных животных, рассматривались как одна контрольная группа.

В составе внеклеточной жидкости, в зависимости от степени ДГ в сыворотке крови, увеличилась концентрация белка. Напротив, ГД сопровождалась уменьшением концентрации белка в сыворотке. В тоже время гематокрит не изменялся у крыс при ДГ и снижался только при введении физиологического раствора. Сгущение крови в условиях ДГ происходило без изменения концентрации натрия в сыворотке крови, но при уменьшении концентрации калия. После введения животным физиологического раствора наблюдалась гиперкалиемия, а введения раствора глюкозы – гипонатриемия.

Во время умеренной ДГ, несмотря на потери воды из организма, содержание воды во всех исследованных тканях, за исключением печени, не отличалось от уровня контрольных крыс. Во всех тканях, кро-

ме мозга, наблюдалось уменьшение количества воды в условиях более интенсивной ДГ. Потеря воды из исследованных тканей составляла 1,6-2,2 мл на 100 г влажной ткани. После вливания физиологического раствора максимальное повышение содержания воды (6,3% от контрольного уровня) имело место в лёгких, при этом у всех животных в лёгких скапливалась свободная жидкость. Наиболее значительное возрастание содержания воды после введения раствора глюкозы отмечалось в скелетной мускулатуре (5,2%) и мышце правого желудочка сердца (3,6%). Во время ГД в ткани мозга содержание воды практически не отличалось от контрольного уровня, за исключением небольшого увеличения в коре мозга при введении глюкозы.

У дегидратированных крыс по сравнению с контрольной группой, концентрация натрия во всех тканях оставалась неизменной, за исключением небольшого уменьшения в печени. Содержание калия у животных после ДГ не изменялось, в расчёте на влажную массу тканей, незначительно снижалось при расчёте на сухую массу исследованных тканей [6].

Введение крысам физиологического раствора практически не влияло на электролитный состав тканей, за исключением лёгкого. Содержание натрия в лёгких возрастало от $54,7 \pm 3,2$ у контрольной группы до $70,4 \pm 5,3$ мэкв/кг влажной массы ($p < 0,05$) после вливания физиологического раствора и до 463 ± 34 мэкв/кг сухой массы (у контрольной группы 271 ± 16 , $p < 0,01$). Концентрация калия в лёгких снижалась в расчёте на влажную массу от $68,8 \pm 3,1$ до $45,8 \pm 5,6$ мэкв ($p < 0,01$), но не отличалась от контрольного уровня при расчёте на сухую массу.

ГД животных раствором глюкозы приводила к значительному изменению содержание ионов в исследованных тканях [24]. Концентрация натрия уменьшалась в некоторых тканях в расчёте на влажную массу, так и на сухую массу тканей. Содержание калия снижалось в большинстве тканей в расчёте на влажную массу, но сохранялось неизменным при расчёте на сухую массу.

В условиях умеренной ДГ содержание воды во всех органах (кроме печени) не изменялось и, следовательно, потеря воды из организма происходит за счёт внеклеточной жидкости. О снижении объёма плазмы крови свидетельствует повышение белка в ней (на 11,6%). При более интенсивной ДГ наблюдается не только более значительное сгущение крови (концентрация белка возра-

стает на 26%), но потеря воды из большинства тканей, за исключением тканей мозга. Полученные данные согласуются с данными других авторов, о том, что в условиях ДГ у различных млекопитающих внеклеточная жидкость является главным источником воды. Известно, что введение в организм физиологического раствора приводит к увеличению объёма крови и внеклеточной жидкости. В наших опытах о повышении объёма плазмы крови свидетельствует снижение концентрации в ней белка на 21,7% и гематокрита на 13,8%. Такое резкое расширение объёма внеклеточной жидкости у нефрэктомированных животных сопровождается образованием у них свободной жидкости в грудной и брюшной полостях, а так же увеличение содержания воды в тканях. Для ткани лёгкого эта величина возрастала от контрольного уровня $3,76 \pm 0,18$ до $5,58 \pm 0,16$ мл./кг сухой массы ($p < 0,001$) после нагрузки крыс физиологическим раствором. При таком внеклеточном отёке в лёгких значительно повышается содержание натрия и снижается концентрация калия. Как и в случае ДГ, введение физиологического раствора не влияло на содержание воды в головном мозге.

После нагрузки крыс раствором глюкозы (которая легко проникает в клетки и быстро метаболизируется) возникает внутриклеточный отёк органов. Значительная гипонатемия и, по-видимому, гипоосмия, способствуют входу воды в клетки. Часть введённого раствора остаётся во внеклеточной жидкости, на что указывает снижение концентрации белка в сыворотке крови на 17,4%. При этих условиях минимальные изменения содержания воды имеют место в ткани мозга и лёгкого, максимальные - в мышечной ткани. Увеличение содержания воды в тканях сопровождается уменьшением концентрации основного внутриклеточного иона (калия) в расчёте на сухую массу тканей. Из полученных данных можно прийти к выводу, что концентрация белка в плазме крови (но не гематокрит) является показателем сгущения или разбавления крови и отражает состояние водного баланса организма. Для исследованных тканей наиболее адекватным показателем нарушения водно-электролитного баланса организма могут служить изменения состава скелетной мышцы [24, 28, 29]. Поскольку эта ткань представляет значительную долю от всей массы тела, то скелетная мышца выступает основным источником воды при ДГ и основным депо жидкости в случае внутриклеточной гипергидратации. При этом водно-электролитный состав тканей головного мозга,

несмотря на выраженные нарушения водно-электролитного баланса организма, остаётся неизменным.

В ряде исследований так же было показано что как при ДГ так и ГД изменения содержания воды в мозге животных были значительно меньше, чем в скелетной мышце и других органах [12, 13, 14, 16, 22]. Поэтому отёк мозга в эксперименте обычно вызывается травмой, ишемией или токсинами.

Литература

1. Адо А.Д. Патологическая физиология. / А.Д.Адо, М.А.Адо, В.И.Пыцкий., Г.В.Порядин, Ю.А.Владимиров // (ред.). М.: Триада 1- X, 2002. 616 с.
2. Алексанин С.С., Хмара В.М., Кобышев С.В. Комплексная клинко-морфологическая и патогенетическая оценка спонтанных и ятрогенных вариантов нарушений водно-электролитного обмена и перспективы их лечения // Всероссийская научно-практическая конференция «Актуальные вопросы клиники, диагностики и лечения». - Вестник Российской Военно-медицинской академии, 2007. - №1(17). - С. 468.
3. Былинкина Т.И. Содержание катионов при общей дегидратации организма у крыс // Патофизиология обезвоживания организма. - М., 1981. - С. 12-18.
4. Гайкова О.Н. К методике определения содержания воды в органах и тканях на секционном материале. - В кн.: Морфологические основы иммунопатологических процессов. Л., 1983. - С. 59-61.
5. Гайкова О.Н. Диагностика нарушений водно-электролитного обмена на секционном материале. - В кн.: Иммуитет, воспаление и эндокринная система. Л., 1984. С. 69-71.
6. Гайкова О.Н. Диагностика нарушений водно-электролитного обмена на секционном материале. Автореферат дисс. К.м.н. М. 1985. - 23 с.
7. Гайкова О.Н. Диагностика нарушений водно-электролитного обмена на секционном материале. Методические рекомендации. Л., 1987. - 12 с.
8. Гайкова О.Н., Ганн О.А. Определение состояния гидратации структур головного мозга у умерших от нейрохирургических заболеваний. // Пособие для врачей. СПб., 1997. - 9 с.
9. Гайкова О.Н., Хмара В.М., Изменение содержания воды и электролитов в тканях организма при создании модели гипотонической гипергидратации // Вестник Российской Военно-медицинской академии, 2007. - №1(17). - С. 375.
10. Горн М.М., Хейтц У.И., Сверинген П.А. Водно - электролитный и кислотно-основной баланс (краткое руководство). Пер. с англ. СПб.: «Невский диалект» - «Издательство БИНОМ», 2000.- 320 с.
11. Клочков Н.Д., Тимофеев И.В. Танатологический анализ летальных исходов. Методические рекомендации. В библиотеку врача-патологоанатома Санкт-Петербурга. С-Пб., 1998. - 35 с.
12. Каиргалиева Ш.Н., Пиотух Л.А. Состояние факторов неспецифической резистентности в условиях дегидратации у крыс. // Патофизиология обезвоживания организма. - М., 1981. - С. 98-106.
13. Лесничий В.В., Хмара В.М., Рыбальченко Д.С. Анализ динамики структурно-функциональных изменений клеток крови у людей в чрезвычайных условиях жизнедеятельности //Международная академия. Межакадемический информационный бюллетень, 2006. - № 27. - С. 70 - 72.
14. Лесничий В.В., Хмара В.М., Насонова Е.В. Психофизиология профессионального здоровья человека и системное моделирование клеточных механизмов его сохранения // Вестник Российской Военно-медицинской академии, 2007. - № 3 (19). - С. 225 - 226.
15. Литвицкий П.Ф. Патофизиология: Учебник в 2-х томах, Т.1. М.: ЭОТАР-МЕД, 2002. - 876 с.
16. Медведев Ю.А., Гайкова О.Н., Гусев Г.П. Методика объективного определения содержания воды и электролитов в органах и тканях трупа // Арх. патологии. 1988. вып.11.- С.77-82
17. Неговский В.А. Реаниматология как неврологическая наука // Анестезиология и реаниматология - 1993. - №4 - С. 62-69.
18. Петрищев Н.Н. (ред). Нарушения водно-электролитного обмена и их фармакологическая коррекция. Л.: 1983. - 40 с.
19. Пшенина С.С. Влияние обезвоживания на некоторые стороны белкового обмена у животных. // Патофизиология обезвоживания организма. - М., 1981. - С. 29-36.
20. Рябов С.И., Наточин Ю.В. Функциональная нефрология. СПб.: «ЛАНЬ», 1997. - 304 с.
21. Храйчик Д.Е., Седор Д.Р., Ганц М.Б. Секреты нефрологии. Пер. с англ. СПб. - М.: ЭОТАР-МЕД, 2002. - 876 с.

- “Невский диалект” - “Издательство БИ-НОМ”, 2001. - 303 с.
21. Хмара В.М., Гайкова О.Н., Чудаков А.Ю. Патологическая водно-электролитного обмена и проблемы клинической психофизиологии // Вестник Российской Военно-медицинской академии, 2007. - № 3 (19). - С. 254.
 22. Хмара В.М., Гайкова О.Н., Чудаков А.Ю. Ятрогенные нарушения водно-солевого обмена в эксперименте, как оптимальная модель изучения нейрональных этапов психофизиологических модельных клинических исследований // Вестник Российской Военно-медицинской академии, 2007. - № 3 (19). - С. 254 - 255.
 23. Чуфаров В.Н. Водно-электролитный баланс. В кн.: Интенсивная терапия угрожающих состояний (п/ред. Корячкина В.А., Страшнова В.И.). СПб: Мед.изд-во. 2002. - С. 9-31.
 24. Bass N. H., Hess H. H. A comparison of cerebroside, proteolipid proteins, and cholesterol as indices of myelin in the architecture of rat cerebrum // J. Neurochem. - 1969. -V. 16 (5). - P. 731-750.
 25. Baudrimont M., Dubas F., Joutel A., Tournier-Lasserre E., Boussier M. G. // Autosomal dominant leukoencephalopathy and subcortical ischemic stroke : A clinicopathological study / Stroke. - 1993. - V. 24(1). - P. 122-125.
 26. Baumgarther C., Olbrich A., Lindinger G., Pataria E., Groppel G., Bacher J., Aull S., Serles W., Hoffmann M. Regional cerebral blood flow during temporal lobe seizures associated with ictal vomiting: an ictal study in two patients // Epilepsia. - 1999. - V. 40 (8). - P. 1085-1091.
 27. Becker L. E. Synaptic dysgenesis // Can. J. of Neurology Science. - 1991. - V. 18 (2). - P. 170-180

Резюме

ПОРУШЕННЯ ЕЛЕКТРОЛІТНОГО ОБМІНУ У ТКАНИНАХ ЩУРІВ ПРИ ДЕГІДРАТАЦІЇ ТА ГІПЕРГІДРАТАЦІЇ

Дергунов А.В., Хмара В.М., Гусев Г.П.

Діагностика порушень гомеостазу води і електролітів в організмі людини та їх корекція були проведені в експерименті на тваринах. Досліджувався вміст води, натрію і калію в сироватці крові і тканинах у щурів в умовах дегідратації та гіпергідратації. Досліди виконувалися на тварин масою 250-300 гр. За результатами експерименту можна прийти до висновку, що концентрація білка

в плазмі крові (але не гематокрит) є показником згущення або розведення крові, і відображає стан водного балансу організму. Найбільш адекватним показником порушення водно-електролітного балансу організму можуть служити зміни складу скелетної м'язи. При цьому водно-електролітний склад тканин головного мозку, незважаючи на виражені порушення водного балансу організму, залишається незмінним. Набряк мозку в експерименті зазвичай викликається травмою, ішемією або токсинами.

Ключові слова: водно-електролітний баланс, дегідратація, гіпергідратація

Summary

INFLUENCE OF DEHYDRATION AND HYPERHYDRATION IN THE TISSUES OF RATS

Dergunov A.V., Khmara V.M., Gusev G.P.

Diagnostics of water-electrolyte imbalance in the human body as well as correction of this disorder are of significant interest for clinical practice in light of the use of infusion therapy. Such data can be acquired mainly through experiments on animals. Water-, sodium- and potassium levels in the blood of the heart-, skeletal muscle-, lung-, liver-, brain tissues were studied in dehydrated and hyperhydrated rats. Blood protein concentration increased during dehydration (DH) and reduced during hyperhydration. The obtained data suggest that blood protein (rather than hematocrit) should be the index of blood thickening or dilution of the blood, reflecting the state of water balance in the body. Of all tested tissues it is changes in composition of the skeletal muscle that can be the most demonstrative indicator of water-electrolyte imbalance. Since this tissue represents a considerable portion of the total body mass, the skeletal muscle is considered to be the main source of water in case of both DH and intracellular hyperhydration. Again, fluid and electrolyte metabolism of the brain remains the same in spite of pronounced water imbalance in the body. A number of authors have reported changes in the amount of water in the brain of animals to be much less significant compared to those in the skeletal muscle and other organs in case of both DH and hyperhydration. Therefore, in experiments cerebral edema is usually caused by injuries, ischemia or toxins.

Keywords: water-electrolyte balance, dehydration, hyperhydration

Впервые поступила в редакцию 28.03.2012 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования