

ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОНОВ ВЕРХНИХ ГРУДНЫХ СИМПАТИЧЕСКИХ ГАНГЛИЕВ КРОЛИКОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПОТЕРМИИ И ИШЕМИИ ДИСТАЛЬНЫХ ОТДЕЛОВ ПЕРЕДНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Изучены характер и особенности нейронных перестроек после экспериментальной ишемии и гипотермии передних конечностей кроликов. Количество дегенерирующих нейронов в грудных симпатических ганглиях кроликов после эксперимента увеличивается. Однако качественный состав дегенерирующих нейронов в эксперименте и при болезни Рейно существенно отличался. Так, процент “сморщенных” нейронов был существенно ниже, чем в ганглиях пациентов с болезнью Рейно. Это позволяет утверждать, что гипотермия и ишемия конечностей не является основной причиной дегенеративных изменений (сморщивание нейронов) в симпатических ганглиях при болезни Рейно.

Ключевые слова: болезнь Рейно, симпатические ганглии, гипотермия и ишемизация кистей, дегенерация нейронов.

A.L. Strinkevich, B.A. Sluka, S.N. Shnitko

We have studied character and distinctive features of neuronc infringements after experimental cooling and ischemia of forward extremities of the rabbits. Character of degenerative changes essentially differed in experiment and at a Raynaud's disease. The quantity of neurones with the diminished sizes was less at the rabbits after experiment, than the patients with a Raynaud's disease. We confirm on the basis of results of experiment, that cooling and ischemia of extremities not the reason of a degeneration of neurones in sympathetic ganglions (decrease of the sizes of neurones) at a Raynaud's disease.

Key words: Raynaud's disease, sympathetic ganglions, cooling and ischemia of hands, degeneration of neurones.

ВВЕДЕНИЕ. Нервная ткань обладает высокой пластичностью и способностью адаптации к экстремальным условиям. Так, у экспериментальных животных, содержащихся в условиях длительной гипоксии (1 год в камере с парциальным давлением кислорода 10%), специфические изменения ультраструктуры нейронов симпатических ганглиев отсутствовали [10]. Однако при целом ряде как острых, так и хронических заболеваний их структура существенно изменяется. Характер и преимущественная локализация морфологических перестроек определяются основным заболеванием [11]. Так, при остром перитоните в солнечном сплетении наблюдаются изменения по типу “первичного раздражения” и “ретроградной дегенерации” (набухание тела нейрона, хроматолиз, сдвиг ядра на периферию, распад нейрофибрилл). При

крупозной пневмонии аналогичные изменения развиваются в верхних грудных симпатических ганглиях. При гипертонической болезни в шейных и грудных симпатических ганглиях преобладают изменения по типу сморщивания: уменьшение размера нервных клеток, приобретение ими угловатой формы, интенсивное прокрашивание базофильного вещества, уменьшение размеров и гиперхроматоз ядер [4, 5, 11]. Причиной развития данных нарушений считается поступление в ганглий мощного потока импульсов из патологического очага [3, 15]. Сигналы при этом могут поступать как по собственным чувствительным симпатическим волокнам [12, 14, 18], так и с аксоплазматическим током по центробежным отросткам [1, 16].

При болезни Рейно симпатические нейроны также претерпевают существенные изменения [9]. Нами установлено, что преобладающим типом нарушений структуры нервных клеток является их сморщивание (77,9% от числа дегенерирующих [8]), что позволяет предположить их предшествующую гиперфункцию [11]. Знание причин данных нарушений позволит рационализировать показания к симпатэктомии и тем самым повысить ее эффективность при болезни Рейно.

Источником чрезмерной стимуляции нейронов симпатических ганглиев при болезни Рейно могут быть как периферические афферентные импульсы от переохлажденных и ишемизированных тканей дистальных отделов (ДО) конечностей, так и центральные (сигналы из сосудодвигательного центра при сформированном устойчивом патологическом состоянии) структуры [1, 2]. Однако значение каждого из этих источников нуждается в экспериментальной проверке. Нами было проведено экспериментальное исследование, цель которого - изучить влияние гипотермии и ишемизации ДО передних конечностей на развитие структурных изменений в симпатических ганглиях экспериментальных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

При планировании эксперимента мы исходили из следующих предпосылок:

1. Изменения нейронов по типу сморщивания развиваются уже при трехчасовом воздействии экстремального фактора (плавание, высокая внешняя температура) [3, 11];
2. Продолжительность приступа ишемии во II стадии болезни Рейно составляет 30 – 60 минут, во время которого температура кожи кистей снижается до 20°C;
3. Гипотермия и ишемия тканей в ходе эксперимента, как и у пациентов с болезнью Рейно во время приступа, должна быть локальной;
4. Снижения притока артериальной крови к ДО конечностей и развития в них венозного застоя можно достичь при внешнем сдавлении предплечья в его средней трети с интенсивностью 35-40 мм. рт. ст. [13, 17].

В качестве экспериментальных животных использованы 24 самца беспородных кроликов массой 2,2-2,5 кг. Кролики были разделены на 4 группы по 6 в каждой. Животным первой группы осуществлялось только холодное воздействие в течение 50-60 мин.; второй - ишемизация в течение 30 мин., а затем 50-60 минутное холодное воздействие; третьей – ишемизация конечности в течение 60-70 мин.; четвертая группа - контрольная. Воздействие

осуществлялось только на передние правые лапы, которые предварительно выбривались у животных первых трех групп.

Гипотермия воспроизводилась фиксацией к нижней трети предплечья кусочка льда массой 18 - 19 г. Ишемизация конечности моделировалась наложением на среднюю треть предплечья резинового турникета шириной 1,0 см с усилием $1,9 \pm 0,3$ Ньютона, что соответствует давлению 35-40 мм. рт. ст.. При таком давлении снижается, но не прекращается полностью приток в предплечье артериальной крови и значительно затрудняется венозный отток [13, 17]. У животных второй группы лед фиксировался через 30 мин. от момента наложения турникета. Во время холодого воздействия турникет у них не снимался.

В ходе эксперимента у каждого животного электрическим медицинским термометром "ТПЭМ-1" измерялась температура кожи в третьем межпальцевом промежутке. Регистрировалась исходная температура (до начала опыта) и конечная (перед окончанием воздействия), а так же температура конечностей во время опыта с периодичностью 10 мин.

Опыты осуществлялись один раз в день ежедневно с 9.00 в светлом помещении при температуре воздуха 19-20°C и нормальной влажности в течение 15 дней.

Эксперимент проводился на базе экспериментально-биологической клиники Белорусского государственного медицинского университета. Каждое животное находилось в отдельной клетке с 12-часовым световым режимом со свободным доступом к сбалансированному по питательности корму и воде. Опыты проводились с соблюдением всех требований "Правил работы с экспериментальными животными", утвержденными на заседании Ученого Совета МГМИ 24.06 1996 г.

По окончании эксперимента животных усыпляли передозировкой тиопентала, после чего выполнялась двухсторонняя торакотомия и осуществлялась симпатэктомия на протяжении 2-4-го симпатических ганглиев справа и слева.

Фиксация материала и приготовление срезов осуществлялось по стандартной методике [6]. Изучение микроструктуры ганглиев осуществлялось на светооптическом уровне при различном увеличении с помощью микроскопа "Zeiss" на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии БГМУ.

Качественные изменения нейроцитов оценивали, классифицируя их на три популяции: неизмененные, реактивно и компенсаторно измененные и дегенерирующие [7]. Диагностические признаки, выявляемые на светооптическом уровне и позволяющие классифицировать исследуемые клетки, представлены в предыдущей публикации [8]. При микроскопии срезов регистрировали следующие количественные параметры: 1- плотность нейронов на срезе ганглия; 2- процентное распределение нейронов по 3-м субпопуляциям и расчет их количества на 1 мм².

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Результаты термометрии в ходе эксперимента показывают, что у животных первой и второй групп температура правых конечностей уже во время 4-го – 6-го сеансов снижалась ниже отметки 16°C, а при моделировании только венозного застоя (третья группа) температура снижалась до 25 – 28 °C на протяжении всего эксперимента. Учитывая характер воздействия (охлаждение, снижение притока артериальной

крови и венозный застой) и его длительность (60 – 90 минут), а так же продолжительность эксперимента (15 дней), считаем, что состояние кровотока в ДО конечностей экспериментальных животных соответствует таковому у пациентов со II стадией болезни Рейно.

Изучение гистологической структуры верхних грудных симпатических ганглиев экспериментальных животных выявляет существенные изменения в строении нейронов после проведенного воздействия. Хотя общее количество нервных клеток практически не изменяется (608,1±12,9 клеток в контрольной и 585,4±26,4 в первой (P>0,05), 610,0±21,9 во второй (P>0,05) и 668,8±13,8 в третьей (P<0,05) соответственно в первой, второй и третьей группах) (таблица 1).

Таблица 1 Выраженность изменений нейронов в симпатических ганглиях животных экспериментальных групп

Типы нейронов	Контроль	Эксперимент	Достоверность
Общее количество (на 1 мм ²)	608,1±9,1	1 гр. – 585,4±26,4 2 гр. – 610,0±21,9 3 гр. – 668,8±13,8	P _{1-К} >0,05 P _{2-К} >0,05 P _{3-К} <0,05
ИЗ НИХ:			
Неизмененных (на 1 мм ²)	451,0±25,0	1 гр. – 303,1±45,5 2 гр. – 419,1±47,1 3 гр. – 290,6±88,0	P _{1-К} <0,05 P _{2-К} >0,05 P _{3-К} >0,05
Компенсаторно измененных (на 1 мм ²)	99,7±12,0	1 гр. – 129,4±23,8 2 гр. – 64,4±5,7 3 гр. – 199,6±52,2	P _{1-К} >0,05 P _{2-К} >0,05 P _{3-К} >0,05
Дегенерирующих (на 1 мм ²)	57,4±6,5	1 гр. – 152,9±20,0 2 гр. – 126,5±22,8 3 гр. – 178,6±50,0	P _{1-К} <0,01 P _{2-К} <0,05 P _{3-К} <0,05

Примечание:

1) 1 гр. – первая экспериментальная группа (охлаждение 50-60 мин.); 2 гр. – вторая экспериментальная группа (ишемизация 30 мин. и охлаждение 50-60 мин.); 3 гр. – третья экспериментальная группа (ишемизация 60-70 мин.).

2) P1-К - достоверность различия между показателями первой и контрольной групп; P2-К - достоверность различия между показателями второй и контрольной групп; P3-К - достоверность различия между показателями третьей и контрольной групп.

Качественный анализ клеточных перестроек показывает, что преобладающим типом дегенеративных изменений является распад клеток и их ядер с образованием “теней” ядер (Рис. 1), несколько реже встречаются изменения в виде вакуолизации цитоплазмы, набухания нейронов. Изменения по типу сморщивания у экспериментальных животных в сравнении с аналогичными изменениями при болезни Рейно выражены менее интенсивно (меньшая степень сморщивания тела клетки, отсутствие гиперхроматоза ядер) (Рис. 2). Следует отметить, что количество сморщенных нейронов в эксперименте и контроле было практически идентичным (в контроле сморщенных нейронов 7,0±1,4%, у экспериментальных животных в первой, второй и третьей экспериментальных группах соответственно 7,5±0,6%, 5,5±1,9% и 8,7±0,5% (в

среднем $7,0 \pm 1,1\%$) ($P > 0,05$). Эти показатели существенно ниже аналогичных у пациентов с болезнью Рейно ($56,9 \pm 2,4\%$) ($P < 0,05$) (Рис. 3).

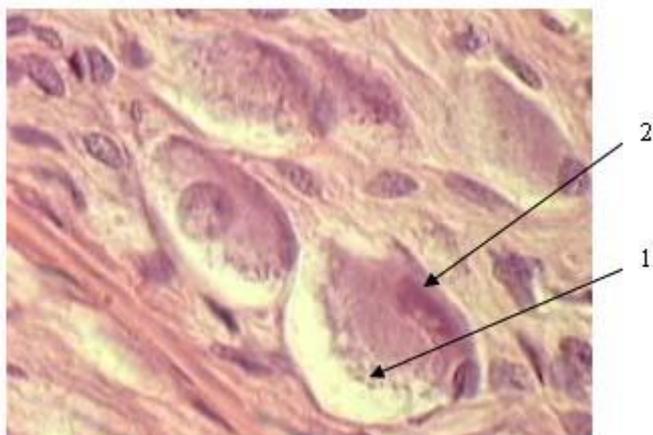
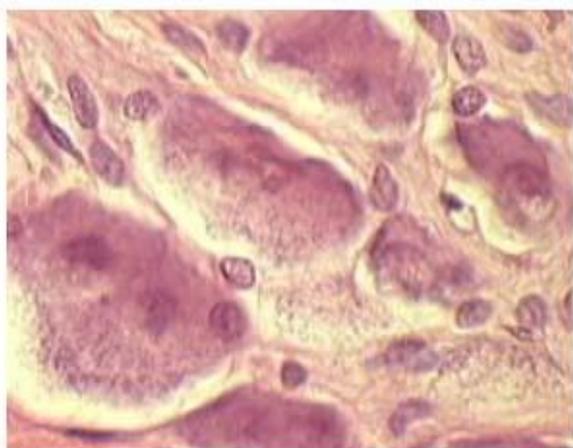
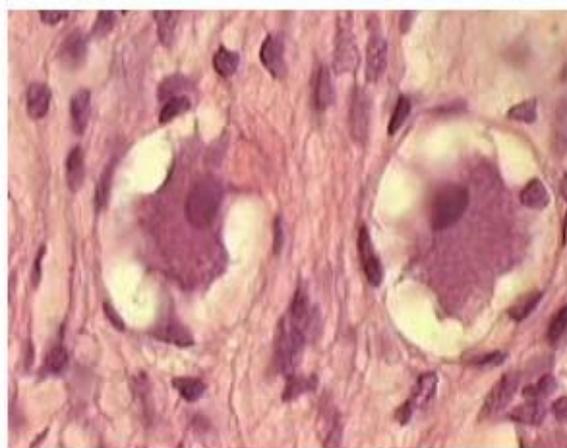


Рис. 1. Фрагментация цитоплазмы (1) и образование тени ядра (2) симпатических нейронов при экспериментальной гипотермии и ишемизации передних конечностей у кроликов. Микрофото: об. $\times 100$, ок. $\times 10$. Окраска гематоксилин-эозином



А



В

Рис. 2. Дегенерация нейронов по типу сморщивания при гипотермии и ишемизации передних конечностей экспериментальных животных (а) и при болезни Рейно (б) Микрофото: об. $\times 100$, ок. $\times 10$. Окраска гематоксилин-эозином

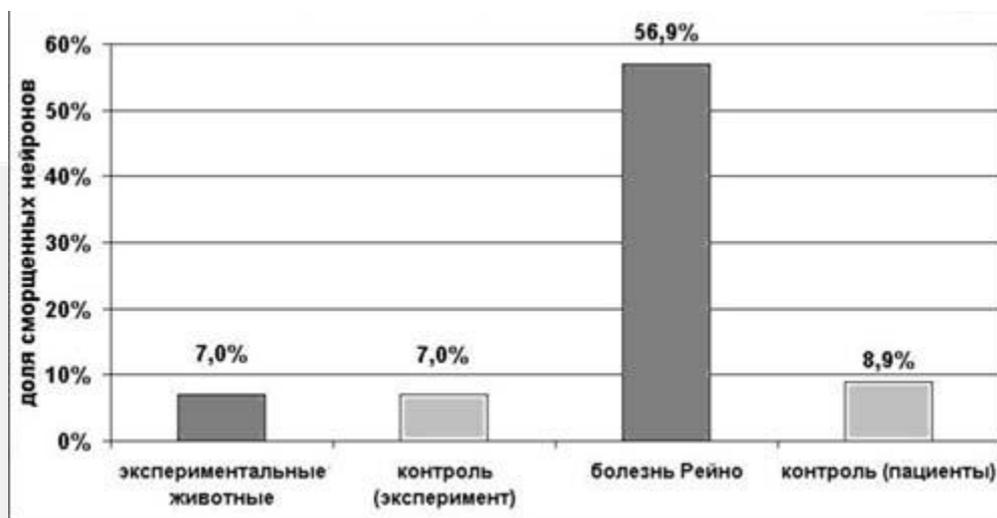


Рис. 3. Количество сморщенных нейронов (в процентах) в общей популяции нервных клеток симпатических ганглиев экспериментальных животных и пациентов с болезнью Рейно

ВЫВОДЫ. Полученные экспериментальные данные наглядно демонстрируют, что моделирование локальной гипотермии, снижения артериального притока и нарушения венозного оттока (венозного застоя) в ДО передних конечностей животных (кроликов) приводит к усилению дегенеративных процессов в верхних грудных симпатических ганглиях. Однако количество нейронов, измененных по типу сморщивания (преобладающий тип дегенеративных изменений при болезни Рейно), после воздействия не отличается от исходных показателей. Неизменность количества сморщенных нейронов в ганглиях экспериментальной и контрольной групп позволяет утверждать, что гипотермия и ишемия дистальных отделов конечностей не является основной причиной дегенеративных изменений (сморщивание нейронов) в симпатических ганглиях при болезни Рейно. Учитывая механизм развития "темноклеточной" дегенерации нейроцитов можно предположить, что причиной характерных изменений в симпатических ганглиях при данном заболевании является неадекватность регуляторных влияний со стороны центральной нервной системы.

Так как характерный для болезни Рейно тип дегенерации нейронов (сморщивание) развивается вне зависимости от ишемии и гипотермии дистальных отделов конечностей, показанием к симпатэктомии рекомендуем считать неэффективность консервативной терапии, а не степень гемодинамических нарушений в кистях. При этом операцию предлагаем выполнять в максимально ранние сроки в связи с прогрессирующей дегенерацией нейроцитов в поздних стадиях заболевания.

Литература

1. Ажипа Я.И. Трофическая функция нервной системы. – М.: Наука, 1990. – 672 с.
2. Бехтерева Н.П., Камбарова Д.К., Поздеев В.К. Устойчивое патологическое состояние при болезнях мозга. – М.: Медицина, 1978. – 240 с.

3. Гурин В.Н., Арчакова Л.И., Екимова И.В. Морфофункциональные механизмы реакций симпатических ганглиев на действие высокой внешней температуры и пирогенов / Морфология. – 1998. – Т. 114, № 6. – С. 31-38.
4. Жаботинский Ю.М. Нормальная и патологическая морфология вегетативных ганглиев. – М.: Изд-во АМН СССР, 1953. – 292 с.
5. Михайлик Т.А., Крикун Е.Н. Морфологические изменения в переднем гипоталамусе и коре полушарий большого мозга после длительного охлаждения / Морфология. – 1998. – Т. 113, № 3. – С. 81.
6. Сапожников А.Г., Доросевич А.Е. Гистологическая и микроскопическая техника: Руководство. – Смоленск: САУ, 2000. – 476 с.
7. Слука Б.А. Морфология легких при химической десимпатизации – Мн.: МГМИ, 2000. – 142 с.
8. Слука Б.А., Стринкевич А.Л. Морфология нейронов верхних грудных симпатических ганглиев пациентов с болезнью Рейно // Бел. мед. журнал. – 2003. - № 2. – С. 85-89.
9. Стринкевич А.Л., Шнитко С.Н, Слука Б.А. Морфология нейронов симпатических ганглиев при болезни Рейно // Морфология. – 2002. – Т. 121, № 2-3. – С. 152.
10. Строение звездчатых симпатических ганглиев в условиях длительной гипоксии / А.А. Сосунов, Г. Хэмдорф, Дж. Цервос-Наварро, В.Н. Швалев // Морфология. – 1996. – Т. 109, № 1. – С. 12-18.
11. Ярыгин Н.Е., Ярыгин В.Н. Патологические и приспособительные изменения нейрона. – М.: “Медицина”, 1973. – 191 с.
12. Capsaicin treatment induces histamine release and perfusion changes in psoriatic skin / A.L. Krogstad, P. Lonroth, G. Larson, B.G. Wallin // Br. J. Dermatol.- 1999. – Vol. 141, № 1. – P. 87-93.
13. Edwards C.M., Marshall J.M., Pugh M. The cutaneous vasoconstrictor response to venous stasis is normal in subjects with primary Raynaud's disease // Clin. Auton. Res. – 1999. – Vol. 9, № 5. – P. 255-262.
14. Effects of abdominal or cardiopulmonary sympathetic afferents on upper cervical inspiratory neurons/ Y. Yuan, M.J. Chandler; R.D. Foreman; J.P. Farber // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2000. – Vol. 278, № 5. – P. 1289-1295.
15. Hausteин U.F. Raynaud phenomenon and scleroderma // Hautarzt. – 1996. – Vol. 47, № 5. – P. 336-340.
16. Identification of a cis-acting dendritic targeting element in MAP2 mRNAs / A. Blichenberg, B. Schwanke, M. Rehbein et al. // J. Neurosci. – 1999. – Vol. 19, № 20. – P. 8818-8829.
17. Impaired cholinergic dilator response of resistance arteries isolated from patients with Raynaud's disease/ P.J. Smith; C.J. Ferro; D.S. McQueen; D.J. Webb // Br. J. Clin. Pharmacol. – 1999. – Vol. 47 № 5. – P. 507-513.
18. Sensory innervation of the lumbar dura mater passing through the sympathetic trunk in rats / Y. Konnai, T. Honda, Y. Sekiguchi. et al. // Spine. – 2000. – Vol. 25, № 7. – P. 776-782