

НЕЙРОННЫЙ СОСТАВ ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО УЗЛА СПИННОМОЗГОВОГО НЕРВА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ДЕАФФЕРЕНТАЦИИ И ДЕСИМПАТИЗАЦИИ¹

Аннотация. Морфологические особенности нейронов изучали в чувствительном узле грудного спинномозгового нерва у крыс 10-, 20-, 30-, 60- и 90-дневного возраста в условиях химической деафферентации десимпатизации. После введения капсаицина и гуанетидина выявлены характерные изменения нейронов, которые заключались в угнетении роста нейронов узла и проявлялись как уменьшением средней площади сечения нейронов, так и снижением выраженности дифференцировки нервных клеток на размерные классы. При этом у десимпатизированных крыс эффект действия гуанетидина на афферентные нейроны выражен в большей степени, чем у деафферентированных крыс при воздействии капсаицина.

Ключевые слова: чувствительный узел, нейроны, капсаицин, гуанетидин, онтогенез, крыса.

Abstract. The article considers a study of morphological features of neurons in thoracic spinal ganglion in 10-, 20-, 30-, 60- and 90-day-old rats under chemical deafferentation and desympathisation. In capsaicin-treated and guanethidin-treated animals, the growth and section area of neurons has been oppressed and decreased, as well as neurons differentiation intensity has been reduced for all animal classes. Thus in desympathised rats the effect of guanethidin on afferent neurons is expressed in the greater degree, than in deafferentated rats under capsaicin influence.

Key words: spinal ganglion, neurons, capsaicin, guanethidin, ontogenesis, rat.

Введение

Нейроны чувствительных узлов спинномозговых нервов неоднородны по морфологическим, гистохимическим, рецепторным и иммуноцитохимическим характеристикам [1–5], а также по связям с органами-мишенями иннервации [6, 7]. В то же время в литературе недостаточно освещены процессы развития популяций нейронов чувствительного узла спинномозгового нерва и реакции различных групп нервных клеток на воздействие антропогенных факторов.

Целью настоящей работы явилось установление морфологических характеристик афферентных нейронов у крыс различного возраста в норме и после воздействия капсаицина и гуанетидина.

1. Материал и методы исследования

Исследование проведено на 75 белых крысах-самках линии Вистар в возрасте 10, 20, 30, 60, 90 суток после рождения с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 775 от 12.08.1977 МЗ СССР). Животные были разделены на три группы: контрольная – нормальные животные ($n = 25$), опытная группа 1 ($n = 25$),

¹ Работа поддержана РФФИ, гранты 08-04-00470, 10-04-00509; ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг.

опытная группа 2 ($n = 25$). В опытной группе 1 на вторые сутки жизни крыс моделировали деафферентацию путем однократного подкожного введения капсаицина (N-vanillylonanamide, Sigma) 100 мг/кг в растворе, состоящем из одной части 96 % этилового спирта, одной части Твин-80, восьми частей 0,9 % раствора NaCl. В опытной группе 2 создавали модель десимпатизации ежедневным подкожным введением гуанетидина (Guanethidine monosulfate, Sigma) 30 мг/кг с рождения до 21 дня жизни животного в растворе 0,9 % NaCl. Морфологические особенности нервных клеток при избирательной денервации изучали в чувствительных узлах вторых грудных спинномозговых нервов.

Из фиксированного в ацетат-формоле материала на криостате готовили срезы толщиной 20 мкм. Для исследования использовали метод окраски нервных клеток тионином по Нисслю. Анализ препаратов проводили на микроскопе МБИ-15У4.2 (ЛОМО, Россия) с установленной цифровой фотокамерой OLIMPUS CAMEDIA C4000 ZOOM с фотоадаптером OLIMPUS C3040-ADUS (Япония). На цифровых изображениях нейронов узлов при увеличении $\times 400$ по программе Image J определяли площадь сечения нервных клеток.

По значениям площади нейронов клеточный состав узлов был разбит и сгруппирован в 5 размерных классов согласно формуле Стерджеса [8]: до 600 мкм² (очень малые), 601–900 мкм² (малые), 901–1200 мкм² (средние), 1201–1500 мкм² (крупные), более 1501 мкм² (очень крупные). Анализу подлежали нервные клетки, срез которых прошел через ядро. Статистический анализ включал определение средней арифметической и ее стандартной ошибки. О значимости различий судили по величине t -критерия Стьюдента и считали их значимыми при $p < 0,05$.

2. Результаты исследования

В контрольной группе животных средняя площадь нейронов чувствительного узла за весь период наблюдения увеличилась с $250,1 \pm 13,01$ до $1175,2 \pm 74,22$ мкм², что составило 4,7 раза. При этом прогрессивное увеличение показателя отмечалось в первый месяц жизни крысы – в 5,6 раза по отношению к 10-дневному возрасту с последующим несущественным снижением в 90-дневном возрасте (рис. 1).

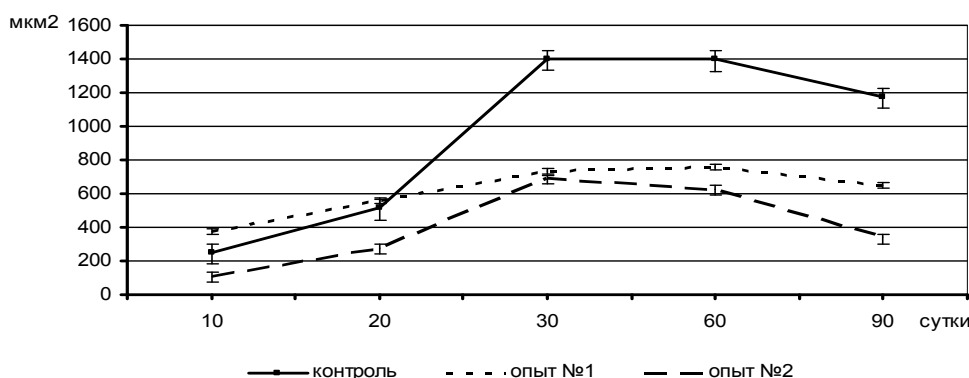


Рис. 1. Возрастные изменения средней площади сечения нейронов чувствительного узла в норме, после химической деафферентации и десимпатизации

При анализе размерных классов нейронов выявлена неоднородность клеточного состава узлов в различном возрасте крысы. Так, в 10-дневном возрасте в узле присутствовали нейроны только очень малых размеров. В 20-дневном возрасте клеточный состав был представлен нейронами пяти размерных классов: малые – 83 % (среди них 72,4 % нейронов очень малых размеров), средние – 7,8 %, крупные – 3,8 % и очень крупные – 5,4 %.

Уменьшение доли нейронов малых размеров продолжалось до 60-дневного возраста крысы (24 %), но в 90-дневном возрасте их содержание увеличилось до 43 % ($p < 0,05$). При этом, если в 30-дневном возрасте размерная группа нервных клеток с очень малой площадью сечения составила 13,4 %, в 60-дневном возрасте – 2,4 %, то в 90-дневном возрасте содержание этих нейронов увеличилось до 23,2 %.

Как видно, для группы сравнения характерно наличие в 10-дневном возрасте в чувствительном узле только нейронов очень малого размера, увеличение средней площади сечения нейронов до 60-дневного возраста, следствием чего явился гетерогенный состав клеточной популяции узла и достоверное снижение к 90-дневному возрасту доли нейронов крупных и очень крупных размеров.

В опытной группе 1 (крысы после химической деафферентации) средняя площадь сечения нейронов за весь период наблюдения увеличилась с $378,8 \pm 22,69$ до $652,1 \pm 59,43$ мкм² ($p < 0,05$), что составило 1,7 раза (рис. 1). При сравнении средней площади сечения нейронов узлов в опытной и контрольной группах наблюдения установлено, что в 10-дневном возрасте показатель превышает контрольный уровень в 1,5 раза, в 20-дневном возрасте значимо не отличается, а в 30-, 60- и 90-дневном возрасте средние значения площади сечения нервных клеток в опытной группе ниже контрольных показателей в 1,8–1,9 раза ($p < 0,05$).

После введения капсаицина выявлены также изменения распределения нервных клеток в пределах обозначенных размерных классов. Так, по сравнению с контролем, в 10-дневном возрасте появились нейроны средних (3,6 %) и малых (16 %) размеров.

В последующих возрастах в опытной группе, как и в контрольной, присутствовали нейроны пяти размерных классов. В 20-дневном возрасте распределение нейронов по классам незначительно отличалось от контроля и было представлено клетками малых – 78,4 % (среди них 70 % очень малых), средних – 6,8 %, крупных – 6 % и очень крупных размеров – 8,8 %. В 30-, 60- и 90-дневном возрасте количество нейронов очень малых размеров составило 49,4; 48 и 62 % соответственно и значимо превышало нормальные показатели. Параллельно с увеличением доли нервных клеток очень малых размеров отмечалось уменьшение количества средних, крупных и очень крупных нейронов узла.

Как видно, после введения капсаицина возрастная динамика средней площади сечения нервных клеток узла отличалась от группы сравнения отсутствием прогрессивного увеличения показателя в течение первого месяца жизни крысы. Это связано с увеличением доли нейронов очень малых размеров и снижением доли крупных и очень крупных нервных клеток к трехмесячному возрасту.

В опытной группе 2 (крысы после химической десимпатизации) средняя площадь сечения нейронов за весь период наблюдения увеличилась

с $110,6 \pm 7,05$ до $338,4 \pm 21,39$ мкм², что составило 3,0 раза (рис. 1). При сравнении средней площади сечения нейронов узлов с таковой в контрольной группе установлено, что в 10-дневном возрасте показатель ниже контрольного уровня в 2,6 раза, в 20-, 30- и 60-дневном возрасте в 2–2,2 раза, в 90-дневном возрасте – в 3,5 раза.

После введения гуанетидина в 10-дневном возрасте крысы, как и в контроле, клеточный состав узла был представлен нейронами только очень малых размеров. В последующих возрастах распределение нервных клеток в пределах обозначенных размерных классов значительно отличалось от контроля. Так, по сравнению с контролем, в 20-дневном возрасте в узле присутствовали нейроны трех размерных классов, доля очень малых нейронов была больше, чем в контроле (90 %), а нейронов средних (2,8 %) и малых (7,2 %) размеров была меньше. Только в 30-дневном возрасте появились нейроны всех пяти размерных классов, при этом большая часть клеток узла (47,4) приходилась на нейроны очень малых размеров. В 60- и 90-дневном возрасте класс нейронов крупного и очень крупного размеров в узле отсутствовал, к 90-дневному возрасту увеличилась доля очень малых нейронов, которая составила 90,8 % от клеток всех размерных классов.

При сравнении средней площади сечения нейронов с опытной группой 1 отмечалось снижение показателя во всех возрастах наблюдения, т.е. средние размеры нейронов после десимпатизации не достигали средних показателей размеров нейронов, характерных для опытной группы 1 после проведенной деафферентации.

Заключение

Как видно, химическая денервация приводит к неоднозначным изменениям нейронного состава в чувствительном узле спинномозгового нерва.

Сопоставление полученных данных у деафферентированных и десимпатизированных крыс позволяет выделить характерные изменения нейронов в той и другой группе наблюдений. Прежде всего это угнетение роста нейронов, что проявляется как уменьшением средней площади сечения нейронов, так и снижением выраженности дифференцировки нервных клеток на размерные классы. При этом эффект десимпатизации на афферентные нейроны выражен в большей степени, чем деафферентации. Не исключая прямого нейротоксического действия применяемых химических веществ, можно оценить более выраженное влияние десимпатизации на афферентные нейроны как следствие снятия трофического влияния на них симпаточитов. Разнонаправленность морфологических изменений нейронов при деафферентации и десимпатизации в 10-дневном возрасте объясняется, очевидно, временным повышением гидрофобности клеток под влиянием капсаицина. Большое содержание очень малых нейронов в чувствительных узлах в контрольной и в опытных группах к 90-дневному возрасту крысы может свидетельствовать о наличии у крыс резерва нейробластов, принадлежности мелких клеток к интернейронам, проявляющих свою пролиферативную потенцию в большей степени после химической деафферентации, и особенно – десимпатизации.

Список литературы

1. Порсева, В. В. NADPH-диафоразо-позитивные структуры спинного мозга и спинномозговых узлов / В. В. Порсева, В. В. Шилкин // Морфология. – 2010. – Т. 137, № 2. – С. 13–17.

2. **Ahluwalia, J.** Cannabinoid 1 receptors are expressed in nociceptive primary sensory neurons / J. Ahluwalia, L. Urban, M. Capogna, S. Bevan, I. Nagy // *Neuroscience*. – 2000. – V. 100. – P. 685–688.
3. **Bridges, D.** Localisation of cannabinoid receptor 1 in rat dorsal root ganglion using in situ hybridization and immunohistochemistry / D. Bridges, A. S. C Rice, M. Eger-tova, M. R. Elphick, J. Winter, G. J. Michael // *Neuroscience*. – 2003. – V. 119. – P. 803–812.
4. **Fuchs, A.** Painful nerve injuri decreased resting cytosolic calcium concentrations in sensory neurons of rats / A. Fuchs, P. Lirk, C. Stucky, S. Abram, Q. Hogan // *Anesthe-siology*. – 2005. – V. 102, № 6. – P. 1217–1225.
5. **Piper, A. S.** One-way cross-desensitization between P2X purinoceptors and vanil-loid receptors in adult rat dorsal root ganglion neurons / A. S. Piper, R. J. Docherty // *J. Physiol.* – 2000. – V. 15, № 523. – P. 685–696.
6. **Берсенов, В. А.** Нейронный состав шейных спинномозговых узлов / В. А. Берсенов // Шейный спинномозговые узлы. – М. : Медицина, 1980. – С. 34–73.
7. **Emanuilov, A. I.** Afferent innervaion of the trachea during postnatal development / A. I. Emanuilov, V. V. Shilkin, A. D. Nozdrachev, P. M. Masliukov // *Autonomic neu-rosceince: Basic and Clinical*. – 2005. – V. 120. – P. 68–72.
8. **Лакин, Г. Ф.** Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.

Порсева Валентина Вячеславовна
кандидат медицинских наук, ассистент,
кафедра анатомии человека, Ярославская
государственная медицинская академия
E-mail: vvporseva@mail.ru

Porseva Valentina Vyacheslavovna
Candidate of medical sciences, assistant,
sub-department of human anatomy,
Yaroslavl State Medical Academy

Шилкин Валентин Викторович
доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой анатомии
человека, Ярославская государственная
медицинская академия
E-mail: vvporseva@mail.ru

Shilkin Valentin Viktorovich
Doctor of medical sciences, professor,
head of sub-department of human anatomy,
Yaroslavl State Medical Academy

Корзина Марина Борисовна
кандидат медицинских наук, ассистент,
кафедра нормальной физиологии,
Ярославская государственная
медицинская академия
E-mail: vvporseva@mail.ru

Korzina Marina Borisovna
Candidate of medical sciences, assistant,
sub-department of normal physiology,
Yaroslavl State Medical Academy

Маслюков Петр Михайлович
доктор медицинских наук, профессор,
кафедра нормальной физиологии,
Ярославская государственная
медицинская академия
E-mail: mpm@yma.ac.ru

Maslyukov Petr Mikhaylovich
Doctor of medical sciences, professor,
sub-department of normal physiology,
Yaroslavl State Medical Academy

УДК 611.89:599.323.4

Порсева, В. В.

Нейронный состав чувствительного узла спинномозгового нерва при моделировании деафферентации и десимпатизации / В. В. Порсева, В. В. Шилкин, М. Б. Корзина, П. М. Маслюков // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2011. – № 3 (19). – С. 24–29.