

Влияние экстремальной криотерапии на морфо-функциональное состояние центральной нервной и сердечно-сосудистой систем

В.Г. БАБИЙЧУК

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Значительные достижения науки в области фундаментальных и прикладных исследований по воздействию холода на организм человека в значительной степени предопределили интерес многих врачей к возможному использованию низких температур в практической медицине. Появление адекватной медицинской техники дало возможность для терапевтического применения экстремально низких температур (-120°C). Экстремальная криотерапия (ЭК) считается одной из наиболее мощных физиотерапевтических процедур, которая в сочетании с традиционными методами лечения может быть использована при лечении патологий различного генеза. Однако до сегодняшнего дня данный физиотерапевтический метод лечения остаётся нетрадиционным, экзотическим. В основе ЭК лежит использование температур ниже -100°C . Метод значительно отличается от традиционного лечения холодом. Прежде всего при ЭК организм реагирует на воздействие холода не только системой терморегуляции, но и всеми возможными механизмами адаптации, в том числе, включая гипоталамо-гипофизарно-адреналовую, иммунную, эндокринную и другие системы. Непродолжительное действие экстремально низких температур не опустошает энергетические и функциональные резервы организма, а являясь звеном стресса, значительно повышает физиологические резервы организма. В этом особую роль играет проницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [1,2,3]. Поэтому наибольший интерес представляют исследования о функциональном состоянии сердечно-сосудистой и центральной нервной систем (ССС и ЦНС) на различных этапах ЭК. Существующие нейротрансмиттерные концепции центральной терморегуляции довольно убедительно объясняют сложные нейрофизиологические процессы. Но ни в одной из моделей до последнего времени не учитывались активность и ультраструктурное состояние ГЭБ гипоталамуса. Возможно, именно поэтому такие схемы нейрометаболической организации температурного гомеостаза не объясняют некоторые специфические эффекты экстремальных температурных влияний. Функционирование ГЭБ стимулируется охлаж-

дением, но не ограничивается только влиянием на состояние терморегуляции. Очевидно, ГЭБ вмешивается во многие адаптационные процессы, особенно скомпрометированные болезнью.

Нам впервые удалось показать [4], что усиление противофазных колебаний проницаемости ГЭБ для симпато- и паросимпатомиметиков при гипотермии может восстановить физиологичную ритмику функционирования ГЭБ, оптимизировать прямые и обратные связи в ЦНС и ССС.

Цель эксперимента – изучить влияние ЭК на морфо-функциональное состояние центральной нервной и сердечно-сосудистой систем.

Материалы и методы

Исследования проводились на 6-ти месячных белых крысах линии Вистар с соблюдением Международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных (Страсбург, 1985). ЭК проводили в криокамере при температуре -120°C . Животные получили 1-9 сеансов 1,5 минутного охлаждения. В соответствии с существующими международными требованиями медицинской техники использовано криостатирование без применения жидкого азота. Структурно-функциональное состояние элементов ГЭБ изучали с помощью электронно-микроскопических, а выявление активности аденилатциклазы, проницаемости ГЭБ для пироксидазы хрена гистохимическим методом [5].

Для выявления аденилатциклазы использовался гистохимический свинцовый метод по Райку, Петцольду, Хигинсу, Грингарду и Барнетту [5]. Регистрацию электрокардиограммы (ЭКГ) осуществляли на электрокардиографе серии “Поли-Спектр” в 6-ти стандартных отведениях. Спектральный анализ показателей вариабельности сердечного ритма (ВСР) проводили с помощью программы “Поли-Спектр-Ритм”.

Спектральный анализ ВСР подразумевает способ разбиения какой-либо исходной кривой на набор кривых, каждая из которых находится в своём частотном диапазоне [6]. Иначе говоря спектральный анализ ритма сердца заключался в идентификации его волновой структуры. Согласно основной системе спектрального анализа ВСР нами были выделены и проанализированы следующие показатели:

ТР, (мс^2) – полная мощность спектра колебаний кардиоритма;

Адрес для корреспонденции: Бабийчук В.Г., Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 373-30-07, факс: +38 (057) 373-30-84, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

– HF, (мс²) – высокочастотные колебания (0,15-0,4 Гц), которые сопряжены с дыханием, и отображают модулирующие влияние парасимпатического отдела вегетативной нервной системы (ВНС) на активность синусового узла;

– LF, (мс²) – низкочастотные колебания (0,04-0,15 Гц), обусловленные периодически возникающими вспышками симпатической вазомоторной активности;

– VLF, (мс²) – мощность спектра кардиоритма в области очень низких частот (0,003-0,04 Гц). Необходимо отметить, что сущность колебаний очень низкой частоты менее всего ясна. Поэтому высказываться о генезе этих волн можно предположительно. Возможно, что к числу таких факторов оказывающих влияние на их величину можно отнести ренин-ангелотензин-альдостероновую систему, концентрацию катехоламинов в плазме, систему терморегуляции и т.д.;

LF/HF- этот показатель характеризует баланс симпатических и парасимпатических влияний на сердечный ритм.

Результаты и обсуждение

Все животные были разбиты на 4 группы (по 7 крыс в каждой группе):

1 группа- контроль;

2 группа- животные, получившие 3 сеанса ЭК;

3 группа- животные, получившие 6 сеансов ЭК;

4 группа- животные, получившие 9 сеансов ЭК;

Как видно из рисунка 1 уже после третьего сеанса ЭК общая мощность спектра нейрогуморальной регуляции незначительно возрастает в сравнении с контролем, отмечается снижение удельного веса волн медленного периода (VLF) и наряду с этим возрастает удельный вес низкочастотных (LF) и в меньшей степени высокочастотных волн (HF). Полученные данные дают возможность предположить, что после 3-х сеансов ЭК вегетативное обеспечение сердечной деятельности характеризуется адекватной активацией симпатического отдела ВНС в ответ на действие “мягкого” холодового стресса.

После 6-го сеанса ЭК значительных изменений (по сравнению с 3-я сеансами ЭК) в удельном весе волн очень медленного и высокого периода (VLF и HF) обнаружено не было, аналогично достоверно не отличалась и общая мощность спектра (TP), в то время как активность симпатико-адреналовой системы снизилась, что свидетельствует об эмоциональной адаптации к действию сверхнизких температур (рис. 2).

После 9-ти сеансов ЭК значение общей спектральной мощности значительно увеличивается. Увеличение общей мощности спектра нами расценивается как хорошее общее функциональное

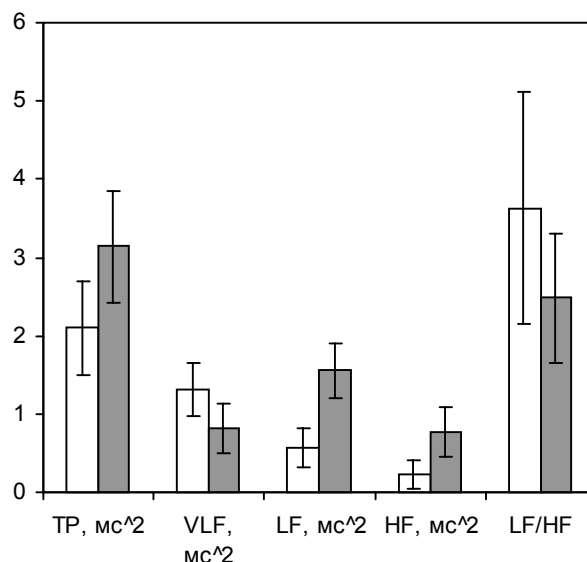


Рис. 1. Показатели спектрального анализа ВСР после 3-го воздействия: □ – контроль; ■ – после 3-го воздействия.

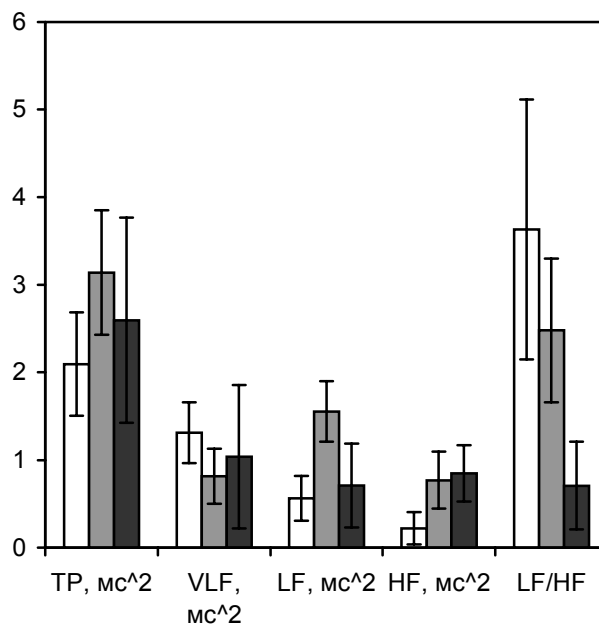


Рис. 2. Показатели спектрального анализа ВСР после 3-го и 6-го воздействия: □ – контроль; ■ – после 3-го воздействия; ■ – после 6-го воздействия.

состояние организма животных. Повышается активность тонуса симпатической и пара-симпатической ВНС, что проявляется увеличением удельного веса низкочастотных и высокочастотных волн, однако преобладает всё же влияние симпатико-адреналовой системы. Увеличение компонентов волн очень низкой частоты можно предположительно объяснить гормональными влияниями на миокард, влияниями эндокринных или гуморальных факторов на синусовый узел, а также связью волн этой частоты с ритмами терморегуляции задаваемыми гипоталамусом и, в частности, активацией функции ГЭБ (рис. 3).

Анализируя полученные данные по действию ЭК на функциональное состояние ССС теплокровных животных, а точнее, на ряд показателей спектрального анализа ВСР, можно сделать вывод, что ЭК, прежде всего, оптимизирует центральные механизмы вегетативной регуляции сердечным ритмом, а конкретно – ствол мозга, гипоталамус, кору головного мозга. Адаптационные возможности половозрелых животных значительно увеличиваются, что подтверждает сильный подъем полной мощности спектра колебаний, а также, повышение тонуса симпатической и парасимпатической ВНС.

Одним из важнейших показателей состояния нормы есть способность организма адаптироваться к изменяющимся условиям внешней среды. По нашему мнению это – сохранение функционального, адекватного уровня саморегулирующейся системы. ССС с её многоуровневой системой управления и регуляции изменяется в зависимости от состояния управляющих звеньев организма, непосредственно взаимодействующих с ней. На наш взгляд, в этих взаимоотношениях целесообразно использовать наши представления о ГЭБ как структурной основе медленной управляющей системы регулирующей и поддерживающей оптимальный уровень функциональной активности мозга и, в частности, гипоталамуса, а следовательно опосредовано и ССС.

Результаты исследований показали, что при экстремальной криотерапии происходит существенное повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера для терморегуляторных нейромедиаторов (табл. 1). Важным оказался тот факт, что проницаемость ГЭБ изменяется дискретно, при этом коэффициенты проницаемости (K_p) принимают определенные значения, группирующиеся в окрестности трех точек: 0; 0,3; 0,7 ($K_p=0$ при абсолютной резистентности ГЭБ, а $K_p=1$ при максимальном уровне проницаемости). Следует отметить, что полный цикл изменения проницаемости ГЭБ от $K_p \gg 0$; $K_p \gg 0,3-0,7$ до $K_p \gg 0$ при интенсивной криотерапии завершается после 9 сеансов (3 экспериментальных суток), тогда как при других видах охлаждения цикл изменения проницаемости ГЭБ либо редуцирован, либо продолжается довольно длительное время – до 30 суток. По нашему мнению, при экстремальной криотерапии происходит ускоренная адаптация с активацией защитных систем организма.

По морфологическим и нейрофизиологическим критериям можно условно выделить 3 этапа или стадии центрального действия экстремальной криотерапии, соответствующим 3 уровням проницаемости ГЭБ, с коэффициентами проницае-

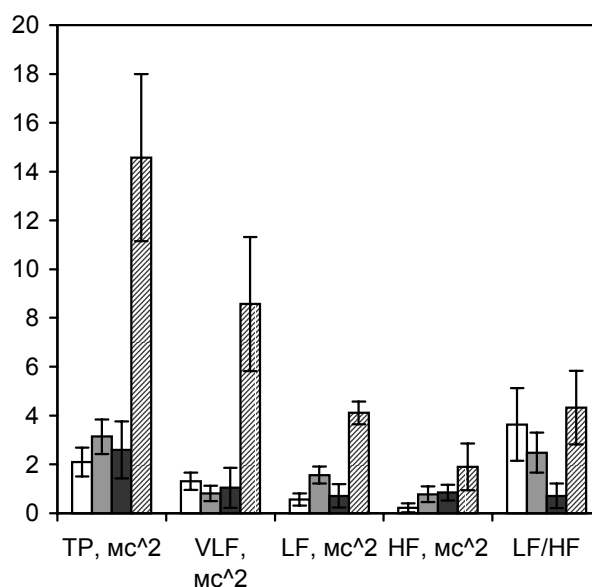


Рис. 3. Показатели спектрального анализа ВСР после 3-го, 6-го и 9-го воздействия: □ – контроль; ■ – после 3-го воздействия; ▒ – после 6-го воздействия; ▨ – после 9-го воздействия.

Табл. 1. Коэффициент проницаемости ГЭБ для ³H-норадреналина при ЭК

Ткань	Проницаемость ГЭБ после сеансов криовоздействия		
	3 сеанса	6 сеансов	9 сеансов
Неокортекс	0,31±0,04	0,67±0,05	0,023±0,0005
Гипоталамус	0,33±0,05	0,73±0,04	0,013±0,005

мости: $K \gg 0,3$; $K_p \gg 0,7$; $K_p \gg 0$. Особенности структурно-функциональной организации эндотелиоцитов капилляров мозга их базального слоя и нейроглиального окружения составляют основу ГЭБ. В частности, в норме практически отсутствует эндоцитозная активность эндотелиоцитов мозга. На первом этапе наблюдается усиление процессов неспецифического транцитоза всех известных видов и их комбинаций с соответствующими изменениями люминальной плазматической мембраны эндотелиоцитов, такими как микровилли, инвагинации, прикрепленные и свободные пиноцитозные везикулы, слияние пиноцитозных пузырьков, формирование мультивезикулярных комплексов (рис. 4). Процесс транцитоза является энергозависимым, поэтому сопровождается активацией митохондрий. Пероксидаза хрена, маркирующая пиноцитоз, выявляется за базальной мембраной.

Неспецифический транцитоз соседствует с рецептор-индуцируемым транцитозом, о чем

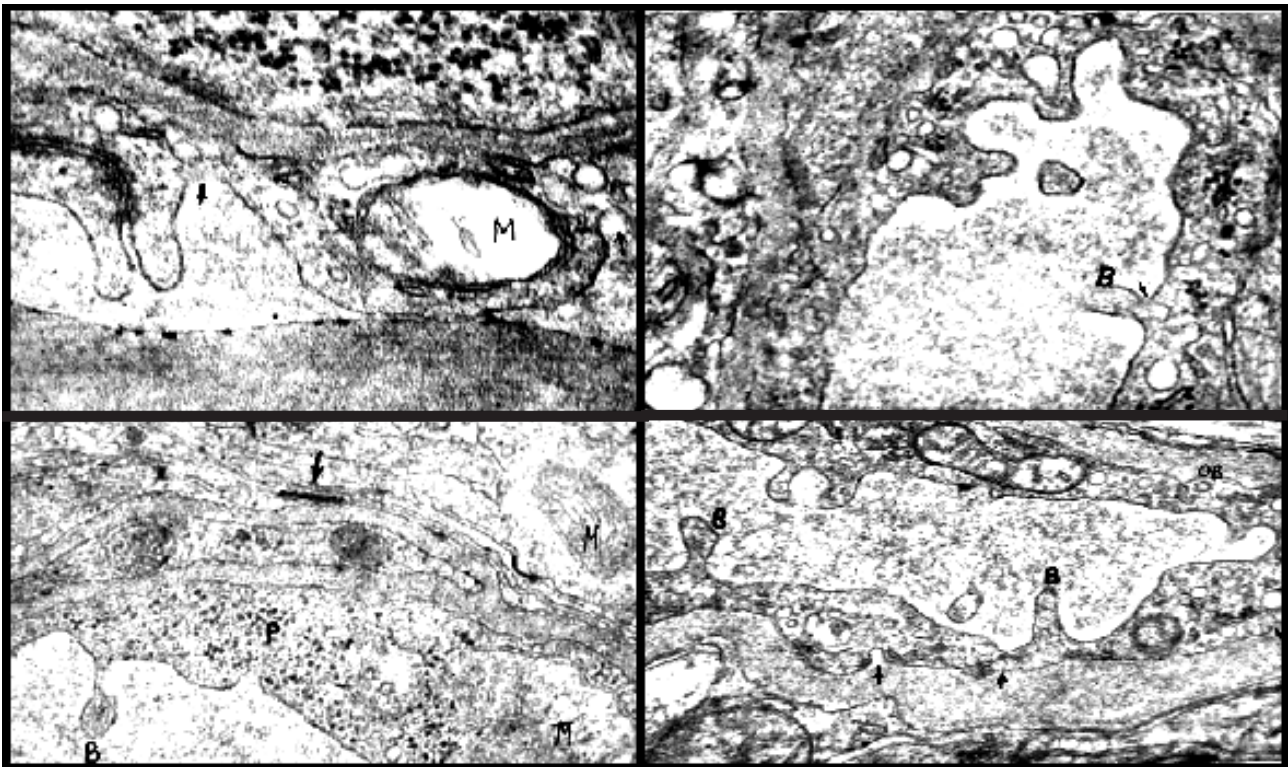


Рис. 4. Активация неспецифического трансцитоза.

свидетельствует наличие специальных везикул (рис. 5).

Покрытые клатриновой филаментозной оболочкой так называемые “одетые” или “опушенные” везикулы транспортируются, взаимодействуя с элементами цитоскелета. Осмиофильные темные везикулы, возможно, переносят биогенные амины, а осмиофобные светлые – ацетилхолин. Активацией специфического и неспецифического трансцитоза можно объяснить повышение проницаемости ГЭБ, соответствующее коэффициенту 0,3. Более высокий уровень проницаемости ($K_p=0,7$) должны обеспечивать более радикальные структурно-функциональные перестройки.

При дальнейшем усилении процессов трансцитоза реактивность сосудистого эндотелия повышается за счет значительных изменений цитоскелетно-мембранных взаимодействий, что

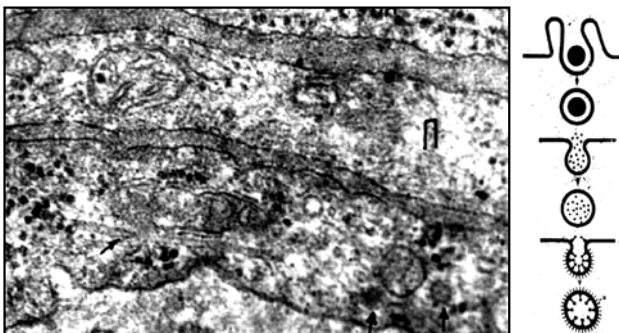


Рис.5. Усиление специфического рецептор-индуцированного трансцитоза.

сопровождается образованием больших кольцевидных выростов плазмолеммы (блебсах), захватывающих агрегаты белков плазмы крови, а вместе с ними и вазоактивные вещества (рис. 6). Предполагают, что норадреналин и ацетилхолин могут связываться не только с мембранными, но и со свободными рецепторами плазмы.

Наши данные подтверждают такую возможность, так как гистохимически выявлена аденилатциклазная активность в блебсах (кольцевидных, пузыреобразных выростах) эндотелиоцитов (рис. 7).

На третьем этапе экстремальной криотерапии коэффициенты проницаемости ГЭБ принимают значения, соответствующие норме. Однако ГЭБ как физиологическая система приходит в новое функциональное состояние. На ультраструктурном уровне наблюдаются перестройки клеток базального слоя. Отростки перицитов характеризуются значительной везикуляцией, гипертрофией пластинчатого комплекса Гольджи, образуют контакты с отростками и телами эндотелиоцитов подчас синапсоподобной формы (рис. 8). Выявление интенсивной аденилатциклазной активности в отростках перицитов может косвенно свидетельствовать об участии этих временных образований в захвате и экзоцитозе вазоактивных веществ в паренхиму мозга. По нашему мнению, такие ультраструктурные перестройки могут способствовать повышению адаптационных способностей организма.

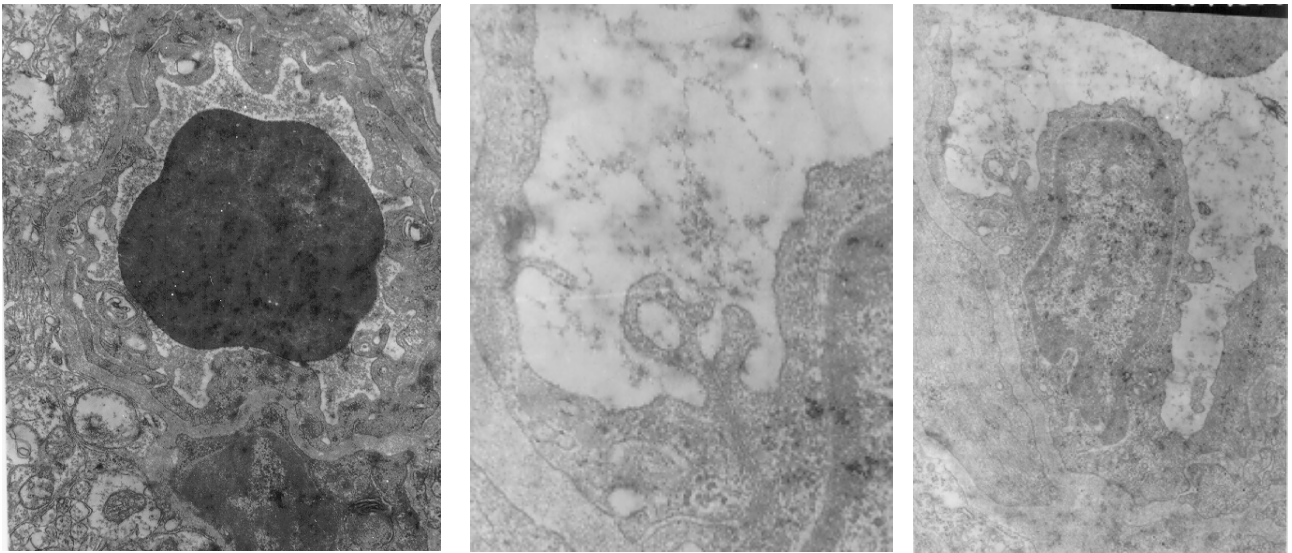


Рис. 6. Ультраструктурные механизмы захвата при транцитозе.

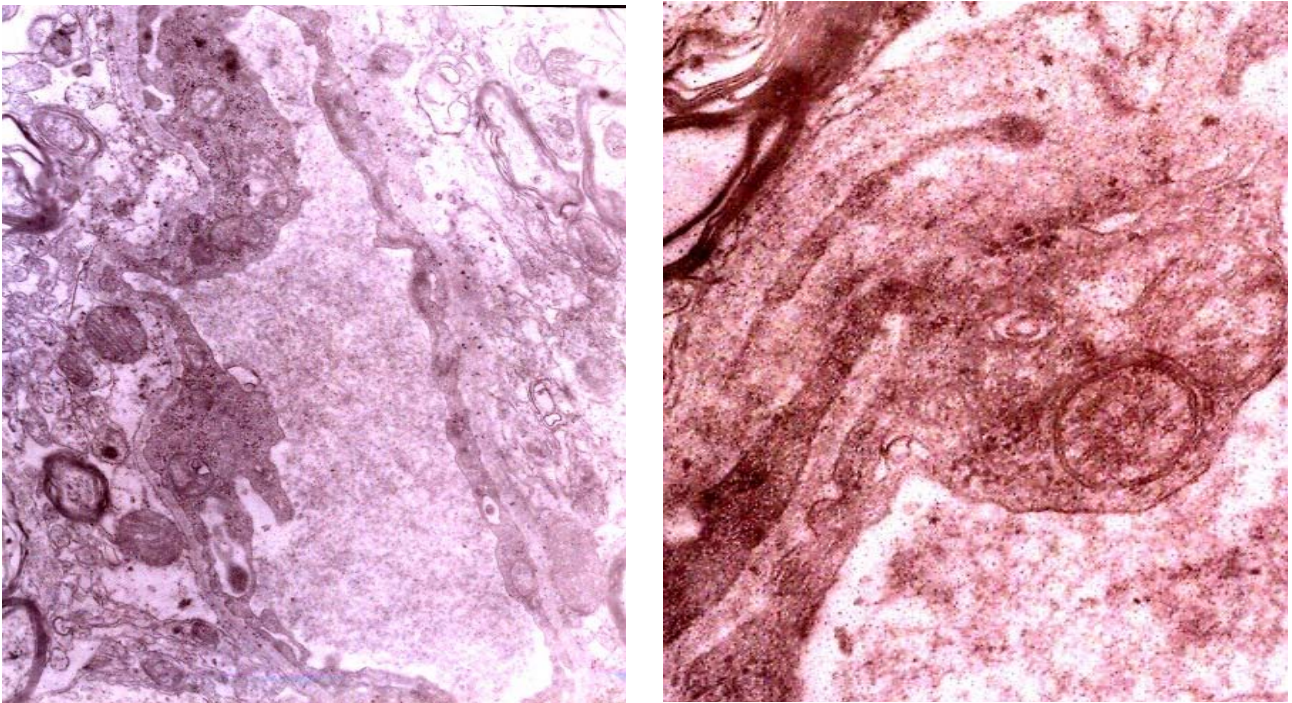


Рис. 7. Ультраструктурные механизмы захвата (распространение аденилатциклазы).

Хорошо известно, что функциональная активность сосудистого эндотелия регулируется не только гуморальными факторами, но и нейротрансмиттерными механизмами.

Установлено, что уже после первого сеанса экстремального охлаждения происходят определенные изменения субмикроскопической организации исследуемых областей гипоталамуса, свидетельствующие об активации различных клеточных групп (рис. 9). У части нейронов, особенно находящихся вблизи кровеносных сосудов, выявляются реактивные изменения: повышается насыщенность матрикса и многих органелл, наблюдается активация комплекса

Гольджи, приводящая к образованию пузырьков и гранул, появляются многочисленные лизосомы, митохондрии и рибосомы. Синаптический аппарат находится в состоянии повышенного функционального напряжения: синаптические пузырьки агглютинируют между собой и сливаются с синаптической мембраной, возрастают протяженность и электронная плотность зон синаптических контактов, увеличивается длина активной зоны.

В пара- и постсинаптических областях наблюдается образование субповерхностных цистерн, что весьма характерно для явления долговременной потенциации.

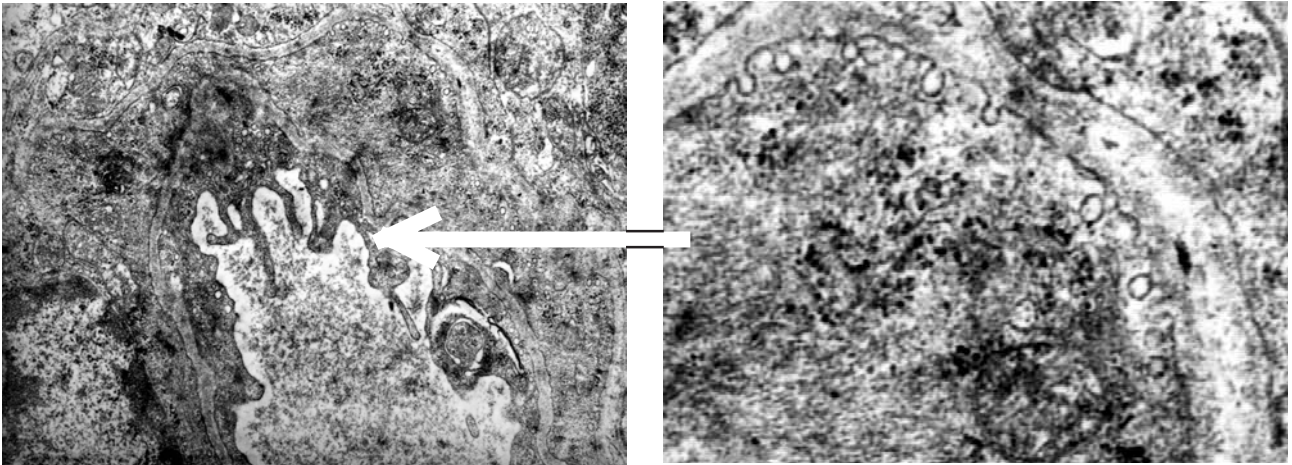


Рис. 8. Базальный слой эндотелиоцита в механизмах проницаемости ГЭБ.

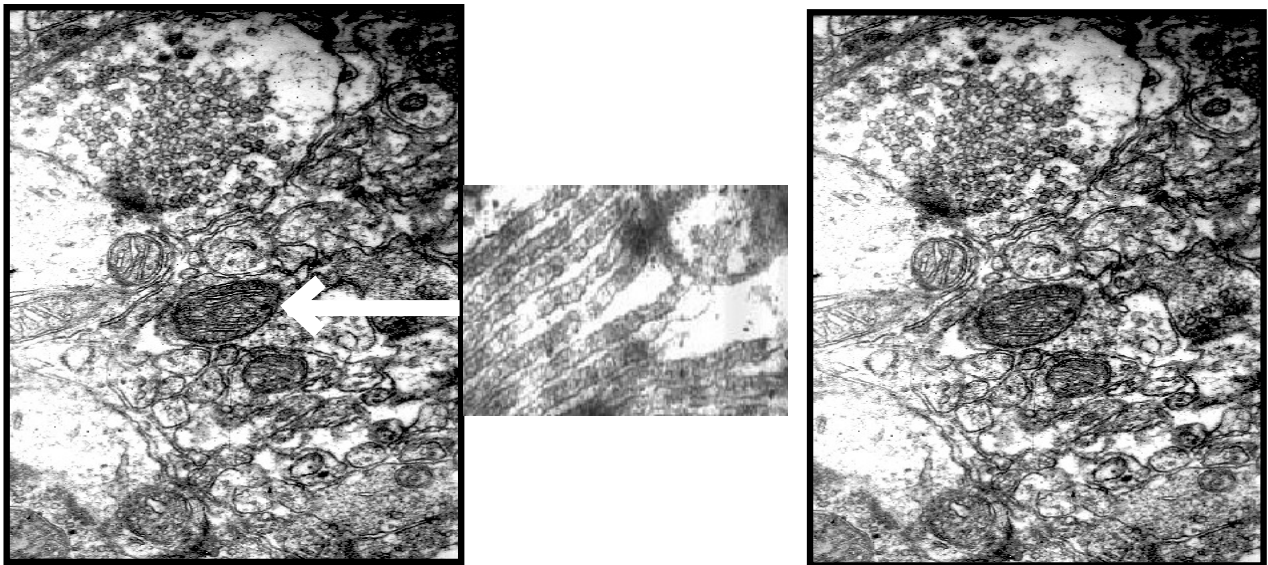


Рис. 9. Ультраструктура синапсов терморегуляторных центров гипоталамуса.

Инициация процесса долговременной потенциации подтверждается и электрофизиологическими исследованиями.

Происходит длительное усиление сверхмедленной биоэлектрической активности в коре и гипоталамусе, в спектре которой доминирует квазисинусоидальный секундный ритм. Периодически повышается пространственная синхронизация биоэлектрической активности неокортекса.

Заключение

На основании собственных исследований мы пришли к заключению, что адаптация организма к ЭК сопровождалась оптимальным уровнем гомеостатического регулирования. Очевидно, наблюдаемые изменения отличаются биологической целесообразностью, поскольку они способствуют быстрой мобилизации различных систем, что является обязательным условием перехода

организма из состояния покоя в состояние активности.

Такая морфофизиологическая реакция преобразования организма в наших экспериментах носит динамический и временный характер и является исключительно актуальной как для биологии, так и для медицины в особенности.

Литература

1. Аладжалова Н.А. Психофизиологические аспекты сверхмедленной биоэлектрической активности головного мозга. – М.: Наука, 1979. – 213 с.
2. Бабийчук Г.А., Шишман М.И. Нейрохимические процессы в центральной нервной системе при гипотермии. – Киев: Наукова думка, 1989. – 152 с.
3. Илюхина В.А. Нейрофизиология функциональных состояний человека. Л.: Наука, 1986. – 171 с.
4. Марченко В.С., Бабийчук В.Г. Кардиорегуляторная функция гематэнцефалического барьера при резонансной гипотермии // Пробл. криобиологии. – 2001. – №4. – С. 17-29.

5. *Марченко В.С., Грищенко В.И., Бабийчук В.Г. и др.* К концепции экзистозцефалической системы охлажденного мозга. Часть 6. Фрактальная геометрия функциональной архитектоники ультраструктурных элементов синаптического аппарата центральной терморегуляции при гипотермии и гибернации // Пробл. криобиологии.– 2003.– №3.– С. 6-20.
6. *Михайлив В.М.* Вариабельность ритма сердца: опыт практического применения метода // Пробл. криобиологии.– 2002.– №1. – С. 9-41.