

Микрогемодициркуляция головного мозга крыс после гипотермического воздействия

Rat's Brain Microhemocirculation After Hypothermic Effect

Гипотермические воздействия вызывают комплекс адаптационно-компенсаторных реакций организма. При изучении терморегуляции было обнаружено, что понижение температуры тела животного до 32°C, а также раздражение холодowych терморепторов ритмическими холодowymi воздействиями (РХВ) в декасекундном ритме способствуют повышению проницаемости гематоэнцефалического барьера для катехоламинов [1]. Не вызывает сомнения роль микрогемодициркуляторного русла головного мозга в реализации этого эффекта. В связи с особенностями функционирования головного мозга его микроциркуляторная система должна иметь особенно совершенные механизмы для быстрого перераспределения крови из одних участков в другие, не допуская опасных уровней ишемии ткани. К настоящему времени в силу существенных методических трудностей этот вопрос недостаточно изучен [4]. В последние годы появилось большое количество работ, посвященных изучению фрактальных закономерностей в микроциркуляторном русле головного мозга [5, 6], что открывает новые горизонты для исследований.

Цель исследования – изучение вегетативных реакций микрогемодициркуляции головного мозга при общей гипотермии и РХВ методом фрактального анализа.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 30 крысах-самцах массой 180-240 г в соответствии с «Общими принципами экспериментов на животных», одобренными II Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2004 г.) и согласованы с положениями «Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985 г.).

Ритмические холодowe воздействия на каудальные терморепторы с частотой 0,1 Гц осу-

Hypothermic effects cause a complex of adaptation-compensatory responses of an organism. When studying the thermoregulation a temperature decrease in animal body down to 32°C, as well as the stimulation of cold thermoreceptors with rhythmic cold effect (RCE) in a deca-second rhythm were revealed as contributing to the blood brain barrier permeability augmentation for catecholamines [1]. The role of microhemocirculatory brain bed in realising this effect is beyond doubt. Due to the brain function peculiarities its microhemocirculatory system should have an especially advanced mechanism for rapid blood redistribution from one site into the others but preventing dangerous levels of tissue ischemia. Nowadays due to the significant methodical complications this question is still poorly studied [4]. Recently a huge number of papers, devoted to studying the fractal regularities in brain microcirculatory bed [5, 6] appeared, that opens a new horizon to study.

The research was aimed to study the vegetative responses of brain microhemocirculation under total hypothermia and RCE by means of fractal analysis.

Materials and methods

The experiments were carried-out in 180-240 g 30 male rats according to the “General ethical principles of experiments in animals”, approved by the II National Congress on Bioethics (Kiev, 2004) and agreed with the statements of the “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes” (Strasbourg, 1985).

Rhythmic cold effect on caudal thermoreceptors with 0.1Hz frequency were done by immersing of rat's tail by a distal 2/3rds into ice water (T = 0...4°C) under automated regimen [1]. For general cooling animals were maintained on bags with ice. Tissue and rectal temperatures were measured by Microlife IR 1DE1 digital infrared thermometer and DT-838 electron multivoltmeter, correspondingly.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

* Адрес для корреспонденции: ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 372-74-35, факс: +38 (057) 373-30-84, электронная почта: cryo@online.kharkov.ua; ludg@list.ru

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

* Address for correspondence: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 372 7435, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua; ludg@list.ru

ществляли погружением дистальных 2/3 хвоста крысы в ледяную воду ($T = 0...4^{\circ}\text{C}$) в автоматическом режиме [1]. Для общего охлаждения животных содержали на пакетах со льдом. Температуру тканей измеряли цифровым инфракрасным термометром Microlife IR 1DE1, ректальную – электронным мультивольтметром DT-838.

Для исследования микрогемодикуляции головного мозга в теменной области черепа высверливали отверстие площадью около 1 см^2 , твердую мозговую оболочку удаляли, пияльную сосудистую сеть наблюдали методом витальной микроскопии с помощью микроскопа Люмам К-1, снабженного средствами фото- и видеорегистрации [3]. Полученные изображения анализировали с помощью компьютерной программы “FRAM”, предназначенной для расчетов морфометрических характеристик объекта, а также фрактальной размерности D , которая является интегральным показателем состояния микрогемодикуляции органа. Показатель Херста (морфометрический) рассчитывали по формуле $H_m = 2 - D$ [3].

Одновременно с биомикроскопическими исследованиями проводили регистрацию электрокардиограммы животного с последующим анализом на аппаратно-программном комплексе “Поли-Спектр” (“Нейрософт”, Россия). Дополнительно, согласно [2], был рассчитан показатель Херста variability сердечного ритма ($H_{(R-R)}$). Характеристический показатель Херста H (Hurst exponent) определяли по формуле: $H = \log(R/S)/\log(T)$, где T – длительность серии; R/S – соответствующее значение изменяющегося масштаба.

Статистическую обработку результатов проводили в среде SPSS.

Результаты и обсуждение

Результаты морфометрического анализа прижизненных фото- и видеоизображений микроциркуляторного русла головного мозга в норме и после гипотермических воздействий приведены в табл. 1.

После гипотермических воздействий диаметры практически всех типов микрососудов не изменились. На наш взгляд, это связано с наличием в мозге компенсаторных механизмов, предотвращающих развитие ишемических нарушений. Значения фрактальной размерности D микроциркуляторного русла головного мозга после гипотермических воздействий достоверно отличались от показателей контрольной группы. Значения D для крыс близки к таковым у кошек [5].

Вполне очевидно, что в процессе наблюдения за микроциркуляцией при гипотермии важное значение имеет контроль за работой сердца. Для иллюстрации происходящих изменений выбрали один из суммарных показателей, учитывающих

To investigate the brain microhemocirculation an approximate 1 cm^2 hole was drilled in parietal region, the dura mater was removed and a pial vascular tree was observed using the method of vital microscopy with Lumam K-1 microscope, supplied with photo- and videorecorders [3].

The obtained images were analysed using the “FRAM” Software, dedicated to calculate the morphometric characteristics of an object, as well as the fractal dimension D , being an integral index of microhemocirculatory state of an organ. The Hurst index (morphometric) is calculated by the formula $H_m = 2 - D$ [3].

The animal electrocardiograms were recorded and a following analysis was done with “Poly-Spektrum” apparatus-program complex (Neurosoft, Russia) simultaneously with biomicroscopic studies. In addition, according to the paper [2] the Hurst exponent of cardiac rhythm variability ($H_{(R-R)}$) was calculated. The Hurst characteristic index H (Hurst exponent) was determined by the formula: $H = \log(R/S)/\log(T)$, where T is the session duration; R/S is a corresponding value of changing scale.

Results were statistically processed with SPSS.

Results and discussion

Results of morphometric analysis of supravital photo- and video-images of brain microcirculatory bed in the norm and after hypothermic effect are shown in the Table 1.

After hypothermic effects the diameters of quite all types of microvessels were unchanged. We believe this is associated with the presence in brain of compensatory mechanisms, preventing the ischemic disorder development. The values of fractal dimension D of brain microcirculatory bed after hypothermic effects was statistically and significantly different from the control group indices. D values for rats are close to those in cats [5].

It is quite evident that when monitoring the microcirculation under hypothermia the heart activity control is of great importance. To illustrate the occurring changes we selected one of the total indices, taking into account a non-linear component of cardiac rhythm (CR): the standard deviation (SDNN) and bound with it coefficient of variation (CV). The Hurst exponent of cardiac rhythm $H_{(R-R)}$ variability was calculated as well (Table 2).

After hypothermic effect no significant change in CR occurs but there is an increase in the values of the standard deviation and variation coefficient. This indicates the enhancement of parasympathetic component in cardiac rhythm. Of especial note is the $H_{(R-R)}$ analysis. In the control group we see the value close to 1. This testifies to a strong suppression of cardiac activity with narcosis. After general cooling the $H_{(R-R)}$ value decreases that points to the activation

Таблица 1. Морфометрические показатели микрогемодициркуляторного русла головного мозга крысы

Table 1. Morphometric indices of rat brain microrcirculatory channel

Группы Groups	T _{мозга} , °C Brain temperature, °C	T _{рект.} , °C Rectal temperature, °C	Диаметр артериол, мкм Arteriole diameter, μm	Диаметр прека – пилярных артериол, мкм Precapillary arteriole diameter, μm	Диаметр пост капиллярных венул, мкм Diameter of post – capillary venules, μm	Диаметр венул, мкм Diameter of venules, μm	Фрактальная размерность D Fractal dimension D
Контроль Control	36,6±1,4	37,4±1,2	18 – 27	13,4±4,2	15,0±8,4	20 – 60	1,28±0,01
После РХВ After RCE	35,9±1,3	35,8±1,6	18 – 28	14,5±3,8	14,8±4,7	22 – 58	1,34±0,04
Общее охлаждение General cooling	30,2±1,7	31,0±1,9	19 – 27	15,1±2,4	12,6±2,9	27 – 56	1,38±0,01

нелинейную составляющую сердечного ритма – стандартное отклонение (SDNN) и связанный с ним коэффициент вариации (CV). Также был рассчитан показатель Херста вариабельности сердечного ритма $H_{(R-R)}$ (табл. 2).

После гипотермических воздействий не происходит значительного изменения ЧСС, но повышаются значения стандартного отклонения и коэффициента вариации. Это указывает на увеличение парасимпатической составляющей в сердечном ритме. Отдельно следует остановиться на анализе $H_{(R-R)}$. В контрольной группе мы видим значение, близкое к 1. Это свидетельствует о сильном угнетении сердечной активности наркозом. После общего охлаждения понижается значение $H_{(R-R)}$, что указывает на активацию самоподдерживающей системы. После РХВ значение $H_{(R-R)}$ перешло в зону антиперсистентности, что свидетельствует о перенастройке системы и запуске принципиально иных адаптационных механизмов.

Выводы

Традиционные морфометрические параметры оказались недостаточно информативными для анализа изменений в микрогемодициркуляции головного мозга на ранних этапах гипотермических воздействий.

Показатель Херста H , количественно характеризующий структурно-функциональное состояние сердечно-сосудистой системы, чувствителен к изменениям функциональной геометрии при гипотермических воздействиях.

Методом фрактального анализа динамического ряда

of self-maintaining system. After RCE the $H_{(R-R)}$ value passed in the area of anti-persistence, testifying to the system readjustment and triggering the principally new adaptive mechanisms.

Conclusions

The standard morphometric parameters occurred to be insufficiently informative to analyse the changes in brain microhemocirculation at early stages of hypothermic effects.

The Hurst H exponent, quantitatively characterising the structural and functional state of cardiovascular system is sensitive to the changes in functional geometry under hypothermic effects.

Using the method of fractal analysis of CR dynamic series and brain microangioarchitecture according to the H criterion we demonstrated that under RCE at the level of heart even at early stages the adaptation processes ($H = 0.39$) were triggered, meanwhile the structure of microhemocirculatory bed remained stable ($H = 0.65$).

Fractal analysis enables an adequate comparing of morphometric and electrophysiological characteristics

Таблица 2. Показатели функциональной активности сердечно-сосудистой системы крысы

Table 2. Indices of rat's cardiovascular system functional activity

Группы Groups	T _{рект.} , °C Rectal temperature, °C	ЧСС, % CR, %	SDNN, мс SDNN, msec	CV, %	$H_{(R-R)}$
Контроль Control	37,4 ± 1,2	100	4	2,54 ± 0,12	0,96 ± 0,03
После РХВ After RCE	35,8 ± 1,6	94,5 ± 4,7	8	5,86 ± 1,04	0,39 ± 0,14
Общее охлаждение General cooling	31,0 ± 1,9	98,5 ± 5,1	10	6,86 ± 1,1	0,82 ± 0,07

ЧСС и микроангиоархитектоники головного мозга по Н-критерию показано, что при РХВ на уровне сердца уже на ранних этапах запускаются адаптационные процессы ($H = 0,39$), в то время как структура микрогемодикуляторного русла остается стабильной ($H = 0,65$).

Фрактальный анализ позволяет адекватно сравнить морфометрические и электрофизиологические характеристики в сердечно-сосудистой системе по количественному признаку, которым является показатель Херста.

Литература

1. Бабийчук Г.А., Марченко В.С., Шило А.В. и др. К механизмам регуляции проницаемости гематоэнцефалического барьера охлажденного мозга. Сообщение 2. Ритмические холодные воздействия повышают проницаемость гематоэнцефалического барьера для терморегуляторных нейромедиаторов // Пробл. криобиологии.– 1995.– №2.– С. 3–8.
2. Воробьев С.А., Шило А.В. Рекуррентный метод нормированного размаха для определения фрактальных свойств случайной последовательности и его применение для анализа ЭЭГ // Радиоэлектроника и информатика.– 1998.– №3.– С. 165–168.
3. Луценко Д.Г., Марченко Н.В., Марченко В.С., Слета И.В. Комплекс для фрактальной морфометрии микроциркуляторного русла *in vivo* // Пробл. криобиологии.– 2005.– Т. 15, №3.– С. 516–518.
4. Мчедlishvili Г.И. Приоткрывая покровы неизвестного в физиологии и патологии микроциркуляции крови // Патол. физиология и эксперим. терапия.– 1991.– №3.– С. 3–7.
5. Hermán P., Kocsis L., Eke A. Fractal Branching Pattern in the Pial Vasculature in the Cat // Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism.– 2001.– Vol. 21, N6.– P. 741–753.
6. Lapi D., Marchiafava P.L., Colantuoni A. Geometric characteristics of arterial network of rat pial microcirculation // J. Vasc. Res.– 2008.– Vol. 45, N1.– P. 69–77.

Поступила 20.05.2008

in cardiovascular system by the quantitative character which is the Hurst exponent.

References

1. Babijchuk G.A., Marchenko V.S., Shilo A.V. et al. On the mechanisms of regulation of BBB permeability of cooled brain. Report II. Rhythmic cold exposures increase BBB permeability to thermoregulatory neuromediators // Problems of Cryobiology.– 1995.– N2.– P. 3–8.
2. Vorobiev S.A., Shilo A.V. Recurrent method of standardized range to determine the fractal properties of random sequence and its application for EEG analysis // Radioelektronika i Informatika.– 1998.– N3.– P. 165–168.
3. Lutsenko D.G., Marchenko N.V., Marchenko V.S., Sleta I.V. Complex for fractal morphometry of microcirculatory channel in vivo // Problems of Cryobiology.– 2005.– Vol. 15, N3.– P. 516–518.
4. Mchedlishvili G.I. By opening the covers of unknown in physiology and pathology of blood microcirculation // Patol. Fiziologiya i Eksperim. Terapiya.– 1991.– N3.– P. 3–7.
5. Hermán P., Kocsis L., Eke A. Fractal Branching Pattern in the Pial Vasculature in the Cat // Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism.– 2001.– Vol. 21, N6.– P. 741–753.
6. Lapi D., Marchiafava P.L., Colantuoni A. Geometric characteristics of arterial network of rat pial microcirculation // J. Vasc. Res.– 2008.– Vol. 45, N1.– P. 69–77.

Accepted in 20.05.2008