

УДК 591.481.13:591.41:591.112.4

## ЗАВИСИМОСТЬ МЕЖДУ ПЛОТНОСТЬЮ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ ИННЕРВАЦИИ СРЕДНЕЙ МОЗГОВОЙ АРТЕРИИ ПОЗВОНОЧНЫХ, ЕЕ ДИАМЕТРОМ И ТОЛЩИНОЙ СРЕДНЕЙ ОБОЛОЧКИ

Л.Д. Маркина<sup>1</sup>, Т.А. Шуматова<sup>1</sup>, Ю.В. Сайко<sup>1</sup>, В.М. Колдаев<sup>2</sup><sup>1</sup> Владивостокский государственный медицинский университет (690002, г. Владивосток, пр. Острякова, 2),<sup>2</sup> Горнотаежная станция ДВО РАН (695533, Приморский край, Уссурийский район, п. Горнотаежное, ул. Солнечная, 26)**Ключевые слова:** позвоночные, сосуды, нервные волокна, аппроксимация.

Предложен способ аппроксимации точечной зависимости между двумя переменными для оценки зависимости между диаметром средней мозговой артерии позвоночных, толщиной ее средней оболочки и плотностью эффекторной иннервации. Исследовались костистые рыбы, амфибии, пресмыкающиеся, птицы и млекопитающие. Холинергические нервные волокна определялись гистохимическим методом Келле на ацетилхолинэстеразу на тотальных препаратах. Подсчитывалась плотность нервных сплетений на 1 мм<sup>2</sup> поверхности сосуда. Установлено, что плотность холинергической иннервации возрастает параллельно увеличению диаметра артерии и толщины ее средней оболочки. Холинергическая иннервация средней мозговой артерии усиливается в направлении от нижних позвоночных к вышшим и достигает наибольшего развития у млекопитающих.

Сравнительные исследования нервных механизмов регуляции мозгового кровообращения единичны и противоречивы [1, 4]. Поэтому представления о процессе развития нервного аппарата экстрацеребральных артерий, его взаимоотношениях со структурными элементами сосудистой стенки во многом остаются предметом догадок и спекуляций. Для выявления закономерностей изменения иннерваций мозговых артерий в ряду позвоночных наиболее удачным объектом является средняя мозговая артерия, так как развитие этого сосуда не зависит от особенностей кровоснабжения головного мозга [2, 7]. Цель настоящей работы состояла в оценке зависимости между плотностью холинергической иннервации средней мозговой артерии позвоночных, ее диаметром и толщиной средней оболочки.

**Материал и методы.** Исследовали среднюю мозговую артерию 300 позвоночных животных: костистых рыб (дальневосточная навага, пелингас, угай), амфибий (травяная зеленая лягушка, серая жаба), пресмыкающихся (степная и дальневосточная черепахи), млекопитающих (белая крыса, морская свинка, домашняя кошка). Животных умерщвляли хлороформным наркозом. Через 5–10 мин после забоя животных образцы исследовали гистохимическим методом Келле на ацетилхолинэстеразу (АХЭ) и электронно-микроскопическим методом. Подсчитывали плотность АХЭ-положительных нервных волокон на 1 мм<sup>2</sup> поверхности средней мозговой артерии. Под диаметром сосуда подразумевали величину ее поперечника на плоскостных тотальных препаратах. Нервные проводники подсчитывали в строго определенном участке артерии – в месте ее соединения с артериальным кругом большого мозга. Полученные данные подвергали вариационно-

статистической обработке с определением критерия значимости по Стьюденту.

Для оценки зависимости между плотностью холинергической иннервации, диаметром сосуда и толщиной его средней оболочки предложен способ аппроксимации точечной зависимости между двумя переменными [2]. На первом этапе определяется общий вид функциональной зависимости между двумя переменными:  $\beta = \alpha + cf(x)$ , где  $\beta$ ,  $x$  – исходные переменные, значения которых заданы в точках;  $\alpha$ ,  $c$  – постоянные;  $f(x)$  – функция от аргумента  $x$ . Вид функции избирается, исходя из конкретных значений переменных при анализе общего характера зависимости. На втором этапе проводится определение постоянных коэффициентов  $\alpha$  и  $c$  из условия минимума среднеквадратической погрешности аппроксимации –  $S$ , которое записывается в виде:

$$\min S = \min_{\alpha, c} \sum_{j=1}^N \{\beta_j - [\alpha + c(f_j)]\}^2, \quad (1)$$

где  $\beta_j$ ,  $x_j$  – точечные значения исходных переменных,  $N$  – число точек, для которых известны значения переменных  $\beta$ ,  $x$ .

Как известно, среднеквадратическая погрешность  $S$  достигает минимума при условиях:

$$\frac{\delta S}{\delta \alpha} = 0; \quad \frac{\delta S}{\delta c} = 0. \quad (2)$$

С учетом выражений (1) и (2) получаем уравнения для определения коэффициентов  $\alpha$  и  $c$ :

$$\alpha = \frac{\sum_{j=1}^N \beta_j - c \sum_{j=1}^N f(x_j)}{N}, \quad (3)$$

$$c = \frac{\sum_{j=1}^N \beta_j f(x_j) - \alpha \sum_{j=1}^N f(x_j)}{\sum_{j=1}^N f^2(x_j)}. \quad (4)$$

Отсюда, решая систему двух уравнений (3) и (4) с двумя неизвестными  $\alpha$  и  $c$ , получаем:

$$\left. \begin{aligned} c &= \frac{\sum_{j=1}^N f(x_j) \beta_j - \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N (\beta_j)}{\sum_{j=1}^N f^2(x_j) - \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N f(x_j)} \\ \alpha &= \frac{\sum_{j=1}^N \beta_j - c \sum_{j=1}^N f(x_j)}{N} \end{aligned} \right\} \quad (5)$$

Производя вычисления по формуле (5) для заданного вида функции  $f(x)$  и значений исходных переменных  $\beta_j, x_j$ , получаем численные значения коэффициентов  $\alpha$  и  $c$ , обеспечивающих минимальную среднеквадратическую погрешность аппроксимации  $S$  в заданном классе функций  $f(x) = x$ . Например, при выборе на первом этапе функции  $f(x) = x$  получаем приближение в виде:

$$\beta = \frac{\sum_{j=1}^N \beta_j - c \sum_{j=1}^N x_j}{N} + \frac{\sum_{j=1}^N x_j \beta_j - \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \beta_j}{\sum_{j=1}^N x_j^2 - \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N x_j}, \quad (6)$$

где  $c$  стоит множителем во втором слагаемом справа.

**Результаты исследования.** Изучение ультраструктуры средней оболочки средней мозговой артерии позвоночных животных позволило выявить общие и отличительные черты ее строения. Средняя оболочка рыб развита слабо и представлена одним слоем гладких миоцитов. У земноводных появляется второй слой гладких мышечных клеток. Дальнейшее развитие получает средняя мозговая артерия у рептилий, где она приобретает третий слой гладких миоцитов. Различия становятся наиболее заметными у птиц и млекопитающих, то есть при переходе от пойкилотермной к гомеотермной внутренней среде. Возрастает диаметр артерий, число слоев гладких миоцитов в средней оболочке (табл.). Эти изменения находятся в соответствии с увеличением объема циркулирующей крови, необходимой для деятельности все более развивающегося мозга.

Тонкие холинергические нервные волокна латеральной обонятельной артерии костистых рыб, являющейся аналогом средней мозговой артерии более высокоорганизованных позвоночных, имеют в основном поперечное направление, то есть угол наклона их к длинной оси сосуда более  $45^\circ$ . Наибольшая плотность холинергических нервных волокон наблюдается у пелингаса, затем в убывающем порядке следуют угай и навага (табл.).

У земноводных холинергические нервные волокна формируют широкопетлистые сплетения в стенке средней мозговой артерии. Они имеют общий для всех видов земноводных план строения. Однако плотность распределения нервных волокон колеблется у разных видов: она наибольшая у серой жабы и менее выражена у зеленой травяной лягушки. Характер холинергических нервных сплетений средней мозговой артерии пресмыкающихся заметно усложняется по сравнению с амфибиями.

Выделяются поверхностные нервные стволы толщиной до 30 мкм и глубже лежащие тонкие варикозные терминалы. Концентрация поперечных волокон на всех артериях заметно превосходит численность продольных аксонов. Плотность нервных сплетений артерии степной черепахи значимо выше, чем у дальневосточной. Диаметр средней мозговой артерии птиц заметно увеличивается, что связано с увеличением размеров мозга. Холинергические нервные сплетения средней мозговой артерии голубей, кур и уток имеют яркие

**Таблица**  
Концентрация холинергических нервных волокон и толщина средней оболочки средней мозговой артерии ( $M \pm m$ )

Вид	n	Толщина оболочки, мкм	n	Концентрация волокон на 1 мм <sup>2</sup>
Навага	9	2,00±0,17	22	1,50±0,03
Угай	6	2,00±0,19	14	1,90±0,04
Пелингас	7	2,00±0,18	13	3,00±0,01
Травяная лягушка	6	6,25±1,07	14	4,00±0,03
Серая жаба	3	6,00±1,48	17	5,90±0,02
Дальневост. черепаха	3	9,18±1,84	19	14,00±0,39
Степная черепаха	3	9,00±1,82	22	16,60±1,70
Голубь	6	35,00±2,52	30	21,20±1,38
Курица	6	35,54±2,56	53	29,00±2,23
Утка	11	36,23±5,22	9	38,10±1,14
Крыса	6	43,00±2,89	28	61,00±0,45
Морская свинка	6	45,76±2,89	16	51,80±0,09
Кошка	6	48,18±3,81	43	60,00±0,38

качественные и количественные отличия. У голубей они крупногранулярного строения, преимущественно продольной ориентации. В отличие от голубей у кур и уток холинергические нервные сплетения средней мозговой артерии представлены мелкогранулярными волокнами, формирующими узкопетлистые сети. Количественные данные убеждают в том, что холинергическая иннервация средней мозговой артерии наиболее развита у уток, слабее – у кур и еще менее выражена у голубей.

Средняя мозговая артерия млекопитающих обладает наиболее богатым эффекторным нервным аппаратом. Концентрация холинергических проводников в этом сосуде у морской свинки значительно выше, чем у всех видов птиц. У крысы плотность нервных волокон в артерии достоверно больше, по сравнению с морской свинкой. Дальнейшее увеличение концентрации эффекторных нервных проводников средней мозговой артерии наблюдается у кошек (табл.). Для установления зависимости между плотностью эффекторной иннервации, диаметром артерий и толщиной их средней оболочки был использован метод аппроксимации (рис.). Описанные в литературе способы аппроксимации функций ортогональными многочленами, отрезками ряда Фурье и другими методами дают решение задачи в неудобном виде из-за сложности аппроксимирующей функции, что затрудняет толкование результатов. Использованный в работе способ позволяет быстро аппроксимировать данные с достаточной степенью точности простыми зависимостями.

**Обсуждение полученных данных.** Основным элементом средней оболочки мозговых артерий являются гладкие миоциты, имеющие веретеновидную форму. Специализированными органеллами гладких миоцитов являются миофибриллы. Они состоят из филаментов, основу которых составляют сократительные белки: из актина строятся тонкие (3–7 нм), из миозина – толстые (12 нм) филаменты. На периферии миоцита в

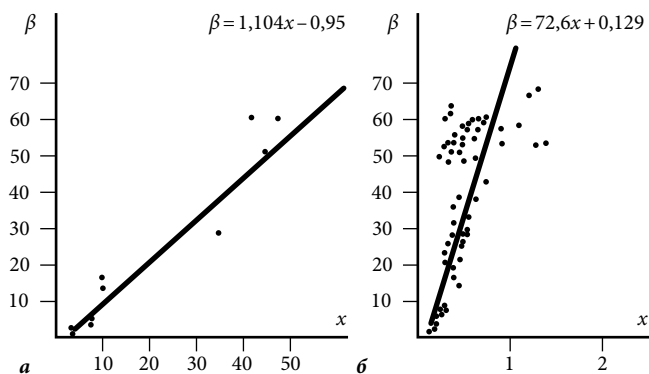


Рис. Графическое выражение зависимостей:

а – между плотностью холинергических нервных волокон и толщиной средней оболочки средней мозговой артерии позвоночных; б – между плотностью холинергических нервных волокон и диаметрами мозговых артерий позвоночных; на а:  $x$  – толщина средней оболочки артерии в мкм,  $\beta$  – плотность холинергических нервных проводников; на б:  $x$  – диаметр артерии в мм,  $\beta$  – плотность холинергических нервных волокон.

непосредственной близости к плазмолемме располагается довольно много плотных осмиофильных телец величиной от 60 нм до 0,8 мкм. Создается впечатление, что миофиламенты вступают в эти осмиофильные образования, которые в настоящее время рассматривают как приспособительные устройства, повышающие сократительный эффект [1, 3]. Довольно распространенными и постоянными структурами гладких миоцитов мозговых артерий являются пиноцитозные везикулы. Некоторые исследователи рассматривают их в качестве аналогов Т-систем поперечно-полосатых мышц [6]. Кумулируя ионы кальция, плазмолеммальные образования участвуют в сокращении мышечных клеток [4]. Необходимо отметить количественное преобладание пиноцитозных везикул в миоцитах мозговых артерий рыб, по сравнению с млекопитающими. У остальных позвоночных существенной разницы в их числе не наблюдается. Гладкие мышечные клетки образуют единый сократительный аппарат, функциональные связи в котором осуществляются посредством многочисленных межклеточных контактов. Наиболее распространены в сосудистых гладких мышцах щелевые контакты. Размер щели между наружными листками мембран клеток соответствует 2–7 нм. Пространство между мышечными слоями заполнено коллагеновыми и в меньшей степени эластическими волокнами. Последние располагаются параллельно длинной оси артерии, а коллагеновые волокна проходят и перпендикулярно по отношению к ней. Такие взаимоотношения между волокнами соединительной ткани и гладкомышечными клетками, ориентированными в артериях головного мозга по спирали, дают возможность сосудам сокращаться даже при высоком в них давлении [1]. Кроме того, межклеточные промежутки, возможно, шунтируют электрические потенциалы в отдельных клетках [4].

Многочисленные щелевые и более плотные контакты между миоцитами средней оболочки обеспечивают быстрый охват возбуждением всех гладких мышечных клеток средней оболочки. В конечном итоге гладкие миоциты средней оболочки мозговых артерий

представляют основной субстрат для реализации любых (нервных, гуморальных) воздействий на стенки сосуда, однако они способны и автономно реагировать на изменения внутрисосудистого давления, что находит выражение в известном эффекте Остроумова–Бейлисса.

Развитие холинергических нервных сплетений средней мозговой артерии в ряду позвоночных непосредственно связано с увеличением калибра сосуда и толщины его средней оболочки как наиболее существенного эффектора, реализующего действие нервных проводников. Установлено, что плотность холинергической иннервации возрастает параллельно увеличению диаметра артерии и толщины ее средней оболочки. Обе зависимости аппроксимированы по критерию минимума среднеквадратической ошибки аппроксимации, что убеждает в их достоверности. Холинергическая иннервация средней мозговой артерии усиливается в направлении от низших позвоночных к высшим и достигает наибольшего развития у млекопитающих.

#### Литература

1. Александрин В.В., Александров П.Н. Моделирование миогенного ответа пилальных артериол. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2003. № 2. С. 73–76.
2. Маркина Л.Д. Функциональная морфология нервного аппарата артерий головного мозга позвоночных животных и человека: дис. ... д-ра мед. наук. Владивосток. 1984. 513 с.
3. Постнов Ю.В. О роли кальциевой перегрузки митохондрий и энергетического дефицита в патогенезе первичной артериальной гипертензии // Арх. патол. 2001. № 3. С. 3–10.
4. Шуба М.Ф., Гокина Н.И., Гурковская А.В. Механизмы возбуждения и сокращения гладких мышц мозговых сосудов. Киев: Наукова Думка, 2004. 166 с.
5. Gabella G. Caveolae intracellularles and sarcoplasmic reticulum in smooth muscle // J. Cell Sci. 1971. No. 8. P. 601–609.
6. Qien A.H., Aukland K. A mathematical analysis of the myogenic hypothesis with special reference to autoregulation of blood flow // Circ. Res. 2003. Vol. 52, No. 3. P. 241–252.

Поступила в редакцию 22.05.2012.

#### DEPENDENCES BETWEEN THE DENSITIES OF CHOLINERGIC INNERVATIONS ON THE MIDDLE CEREBRAL ARTERY OF VERTEBRATES, ITS DIAMETER AND MIDDLE MEMBRANE THICKNESS

L.D. Markina<sup>1</sup>, T.A. Shumatova<sup>1</sup>, Yu. V. Sayko<sup>1</sup>, V.M. Koldaev<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Vladivostok State Medical University (2 Ostryakova Av.

Vladivostok 690950 Russia), <sup>2</sup>FEB RAS Mountain-Taiga Station (26 Solnechnaya St. Gornotaezhnoe Settlement, Ussuriysky District, Primorsky Krai 692533 Russia)

**Summary** – The paper offers the method of approximating the reference-point dependence between two variables to estimate dependences between the medial cerebral artery of the vertebrates, thickness of its middle membrane and density of efferent innervations. The authors have examined bony fish, amphibians, reptiles, birds and mammals, determined the cholinergic nerve fibres by Kelley's histochemical method on acetylcholinesterase on the total preparations, and calculated the density of nerve plexuses at 1 mm of the vessel surface. As reported, the density of the cholinergic innervations increases in parallel to the increase of the artery diameter and thickness of its middle membrane. The cholinergic innervations of the middle cerebral artery intensify from lower vertebrates to superior vertebrates, and reach their maximum in mammals.

**Key words:** vertebrates, vessels, nerve fibres, approximation.