

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»

На правах рукописи

Отлыга Дмитрий Александрович

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ  
ХАРАКТЕРИСТИКА КАРОТИДНОГО КЛУБОЧКА ЧЕЛОВЕКА**

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание учёной степени кандидата медицинских наук

Научные руководители  
д.б.н., профессор С.В. Савельев  
д.м.н., профессор А.Л. Черняев

Москва – 2020

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ .....	2
ВВЕДЕНИЕ .....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	12
1.1. История изучения .....	12
1.2. Анатомия и топография .....	19
1.2.1. <i>Форма, размер и расположение</i> .....	19
1.2.2. <i>Кровоснабжение</i> .....	21
1.2.3. <i>Иннервация</i> .....	24
1.3. Гистологическая организация .....	36
1.3.1. <i>Световая микроскопия</i> .....	36
1.3.2. <i>Иммуногистохимия</i> .....	38
1.3.3. <i>Электронная микроскопия</i> .....	39
1.4. Морфофункциональные теории работы каротидного клубочка .....	47
1.5. Роль каротидного клубочка в развитии и течении заболеваний и при различных патологических состояниях .....	59
1.5.1. <i>Синдром внезапной детской смерти</i> .....	59
1.5.2. <i>Бронхиальная астма</i> .....	61
1.5.3. <i>Артериальная гипертензия</i> .....	64
1.5.4. <i>Сахарный диабет и прочие заболевания</i> .....	64
Заключение к обзору литературы.....	65
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	67
2.1. Характеристика материала .....	67
2.2. Методы исследования .....	75
2.2.1. <i>Методы гистологического исследования</i> .....	75
2.2.2. <i>Методы иммуногистохимического исследования</i> .....	75
2.2.3. <i>Методы микроскопического исследования гистологических и иммуногистохимических препаратов</i> .....	76
2.2.4. <i>Статистические методы</i> .....	77
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	78
3.1. Влияние аутолиза на морфологию каротидного клубочка .....	78

3.2. Влияние типа фиксатора на морфологию каротидного клубочка.....	88
3.3. Сравнение организации каротидного клубочка, органа Цукеркандля и мозгового вещества надпочечника в антенатальном периоде развития человека	96
3.4. Сравнение структуры каротидного клубочка человека в антенатальном и постнатальном периодах развития .....	107
3.4.1. <i>Гистологическая организация каротидного клубочка во внутриутробном периоде .....</i>	107
3.4.2. <i>Иммуногистохимическое исследование каротидного клубочка во внутриутробном периоде .....</i>	109
3.4.3. <i>Гистологическая организация каротидного клубочка взрослых людей</i>	113
3.4.4. <i>Иммуногистохимическое исследование каротидного клубочка взрослых людей</i>	114
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	125
4.1. Онтогенез каротидных клубочков человека.....	126
4.2. Каротидный клубочек как часть единой симпато-адреналовой системы	128
4.3. Предполагаемая модель работы каротидного клубочка .....	130
4.4. Артефакты и их роль в ошибках диагностики различных заболеваний...	135
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	137
ВЫВОДЫ .....	139
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....	141
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	142

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Любой живой организм – от прокариот до млекопитающих – в процессе своей жизнедеятельности должен непрерывно сохранять постоянство своей внутренней среды, или поддерживать гомеостаз. Для этого организму нужно, во-первых, определять изменения тех или иных параметров внешней и внутренней сред, во-вторых, отвечать на эти изменения специфическим образом. Первое называется чувствительной функцией, или чувствительностью, второе – эффекторной функцией. У одноклеточных единая клетка выполняла сразу обе функции, однако в процессе эволюции у многоклеточных организмов шло появление новых тканей и органов, которые брали на себя выполнение преимущественно одной функции.

Важную роль в поддержании гомеостаза играет параганглионарная система, включающая мозговое вещество надпочечников, аортальный поясничный параганглий (орган Цукеркандля), каротидный клубочек и множество разбросанных по всему организму других параганглиев. Все они тесно связаны с вегетативной нервной системой, формируя совместно с последней единую симпато-адреналовую систему.

В последнее время исследователи придают всё большее значение в регуляции дыхательной и сердечно-сосудистой деятельности одному из представителей параганглионарной системы – каротидному клубочку – маленькому хеморецепторному органу, расположенному в области бифуркации общей сонной артерии. Морфологические изменения каротидного клубочка, обнаруживаемые при различных заболеваниях – бронхиальной астме, хронической обструктивной болезни лёгких, артериальной гипертензии и синдроме внезапной детской смерти – могут оказывать влияние на их течение [1–4]. Более того, некоторые исследователи предполагают, что реакция тканей каротидного клубочка на остро возникшую гипоксию может быть её маркёром, что имеет значение в судебной медицине при установлении причин смерти [5].

Несмотря на успехи медицины, вышеперечисленные заболевания остаются одними из самых распространённых причин снижения уровня жизни в развитых

странах. Например, в 2005 году астмой в мире страдало около 327 миллионов человек, в 2015 году количество больных увеличилось уже до 358 миллионов [6], в этом же году она стала причиной смерти 397 тысяч человек [7]. Хроническая обструктивная болезнь лёгких в 2015 году отмечалась у 174 миллионов человек [6], а из них умерли 3,2 миллиона человек, что составляет почти 6% от общего количества умерших от различных заболеваний [7]. Сложная ситуация сохраняется и с синдромом внезапной детской смерти, который ряд авторов связывает с теми или иными изменениями в каротидном клубочке [8,9]. Согласно исследованиям, самой распространённой причиной смерти детей до года вне лечебных учреждений в России в 2017 году стал синдром внезапной детской смерти, что составило 24% от общего числа случаев [10]. Только в США за 2013 год от этой причины погиб 1561 младенец, что составляет 46% от всех внезапных младенческих смертей [11].

Несмотря на важность, которую придают каротидному клубочку в развитии этих заболеваний, наши знания остаются во многом противоречивыми. Значительная вариабельность иннервации и кровоснабжения, быстрое нарастание посмертных изменений и подверженность тканей возникновению артефактов при изготовлении гистологических препаратов затрудняют интерпретацию полученных результатов.

Со времени выхода выдающихся работ de Castro [12,13] и Neumans [14,15], раскрывающих роль каротидного клубочка, учёные сосредоточили своё внимание на исследованиях лишь хеморецепторной функции последнего. При этом любые морфологические и физиологические находки, даже не укладывающиеся в эти узкие рамки, например, наличие большого количества эфферентных синапсов [16], трактуются только с этих позиций. Всё факты, которые не соответствуют общепринятой теории, зачастую игнорируются и не получают теоретического обобщения [17]. Лишь в последнее время благодаря накопившимся фактам появились указания на то, что этот маленький орган играет гораздо большую роль, чем считалось ранее.

Таким образом, в настоящий момент понимание морфофункциональных особенностей каротидного клубочка неполно. Огромное количество различного

рода исследований часто противоречат друг другу, что отрицательно сказывается на попытках применения результатов этих работ для разработки новых методов лечения различных заболеваний дыхательной и сердечно-сосудистой систем.

### **Степень разработанности темы исследования**

На данный момент мы имеем большое количество разрозненных фактов об ультраструктуре, гистологии, физиологии каротидного клубочка и молекулярных механизмах хемочувствительности его клеток. Хорошо изучены гистологические и ультраструктурные особенности каротидного клубочка человека [18–20] и различных животных [21–27]. В свою очередь, функциональные особенности органа исследованы в основном на материале различных лабораторных животных, а не человека [28–30]. Это касается и молекулярных механизмов хемочувствительности клеток [31–34], а также иммуногистохимических характеристик каротидного клубочка [35–41]. Значительные пробелы в наших знаниях связаны со структурными и иммуногистохимическими особенностями каротидного клубочка человека во внутриутробном периоде.

Стоит отметить, что часть установленных фактов об органе категорически не согласуется с его ролью только как начального звена в хеморецепторном ответе организма на гипоксию. К таким фактам относятся: большое количество нервных окончаний, несущих на себе эфферентные синапсы [16,22,42,43]; выделение клетками катехоламинов в ответ на гипоксию [44,45], которые, вопреки ожиданиям, тормозят импульсацию афферентных нервов [44,46]; интенсивный синтез катехоламинов клетками органа во внутриутробном периоде [47]; наличие хеморецепторного ответа афферентных волокон даже при нарушении формирования синапсов между ними и клетками органа [48].

Более того, не отражена роль каротидного клубочка в единой симпатoadrenalовой системе, к которой он, безусловно, принадлежит. Отсутствует понимание взаимоотношений, возникающих в процессе онтогенеза между ним, органом Цукеркандля и мозговым веществом надпочечника. При этом в большинстве работ каротидный клубочек рассматривается либо отдельно от этой системы, либо даже противопоставляется ей [17].

Несмотря на многочисленные исследования связи органа с течением различных заболеваний [49–53], до сих пор нет единого мнения, какие изменения в каротидном клубочке действительно связаны с той или иной патологией, а какие являются лишь артефактами гистологических и ультраструктурных методов.

### **Цель исследования**

Охарактеризовать морфологические и иммуногистохимические особенности каротидного клубочка во взаимодействии с другими органами единой симпатoadrenalовой системы на разных этапах онтогенеза человека.

### **Задачи исследования**

1. Провести гистологическое и иммуногистохимическое исследование каротидного клубочка на разных этапах онтогенеза человека с помощью антител к  $\beta$ III-тубулину, PGP9.5, синаптофизину, тирозингидроксилазе, нейрофиламентам 200кД, GFAP, S100.
2. Сравнить гистологическое строение и иммуногистохимические характеристики каротидного клубочка, органа Цукеркандля и мозгового вещества надпочечников на разных сроках внутриутробного развития человека.
3. Определить изменения относительных размеров каротидного клубочка по отношению к сонным артериям на разных этапах онтогенеза человека.
4. Экспериментальным путём определить влияние аутолиза и различных фиксаторов на морфологию каротидного клубочка, затрудняющих интерпретацию морфологической картины и результатов иммуногистохимических реакций.

### **Научная новизна**

1. Впервые показано, что уже на 8-й неделе после оплодотворения клетки I типа каротидного клубочка человека активно экспрессируют тирозингидроксилазу и  $\beta$ III-тубулин, что свидетельствует об их эндокринной функции.
2. Установлено, что в эмбриональном периоде каротидный клубочек человека и орган Цукеркандля имеют сходные морфологические и

иммуногистохимические характеристики, что свидетельствует об общности их происхождения и выполняемых ими функций.

3. В антенатальном периоде относительные размеры каротидного клубочка, а также синтез тирозингидроксилазы его клетками I типа выше, чем в постнатальном периоде.
4. Впервые на человеческом материале методом иммуногистохимии показано, что во внутриутробном периоде каротидный клубочек наряду с органом Цукеркандля выполняет эндокринную функцию, компенсируя недостаточность незрелого мозгового вещества надпочечника.
5. Выделены стабильные и нестабильные по отношению к аутолизу антигены. Стабильными являются bIII-тубулин, PGP9.5, тирозингидроксилаза, синаптофизин и S100, а нестабильными – GFAP и нейрофиламенты 200кД. Это необходимо учитывать при планировании иммуногистохимических исследований на аутопсийном человеческом материале.

### **Теоретическая и практическая значимость исследования**

Полученные на основе изучения трёх ключевых органов симпатoadреналовой системы – каротидного клубочка, органа Цукеркандля, мозгового вещества надпочечника – данные позволяют сформулировать новую гипотезу функционирования каротидного клубочка человека на разных этапах онтогенеза. Обнаруженное морфологическое и иммуногистохимическое сходство между каротидным клубочком и органом Цукеркандля позволяет предположить не только единство их происхождения, но также и выполнение ими сходной эндокринной функции на ранних этапах внутриутробного развития. Низкий синтез тирозингидроксилазы в постнатальном периоде свидетельствует о том, что каротидный клубочек в значительной степени утрачивает эндокринную функцию и становится периферическим хеморецепторным органом, в то время как эндокринную функцию на себя берёт мозговое вещество надпочечника.

Выявленные закономерности функционирования каротидного клубочка, органа Цукеркандля и мозгового вещества надпочечника целесообразно учитывать

при разработке новых подходов к лечению заболеваний дыхательной и сердечно-сосудистой системы.

Полученные данные о влиянии аутолиза на морфологию клеток органа и иммуногистохимические характеристики его тканей обосновывают сроки забора материала и применение тех или иных маркёров. Среди наиболее широко используемых в практической нейроморфологии антигенов выявлены устойчивые и неустойчивые к аутолизу, что может помочь патоморфологам при создании алгоритмов иммуногистохимического исследования каротидного клубочка на аутопсийном материале плодов и взрослых людей.

### **Методология и методы исследования**

При исследовании применялся системный подход с использованием целого ряда методов. Среди них были как описательные гистологические и иммуногистохимические методы, позволяющие выявить и оценить изменения структуры каротидного клубочка человека на разных этапах онтогенеза, так и экспериментальный метод, необходимый для определения влияния на ткани каротидного клубочка различных фиксаторов и аутолиза, неизбежного при исследовании человеческого материала. Объективность полученных данных была подтверждена статистической обработкой результатов морфометрии.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Каротидный клубочек человека во внутриутробном периоде так же, как и орган Цукеркандля, выполняет эндокринную функцию, осуществляя синтез катехоламинов, тем самым оба органа компенсируют недостаточность функции незрелого мозгового вещества надпочечников.
2. В постнатальном периоде каротидный клубочек меняет эндокринную функцию на хеморецепторную, которую он сохраняет на протяжении всей жизни человека.
3. Уменьшение относительных размеров каротидного клубочка человека в процессе онтогенеза, а также атрофия его паренхимы в старческом возрасте при отсутствии нарушения дыхательной функции

свидетельствуют об избыточности систем регуляции гомеостаза, реализуемых за счёт компенсаторных возможностей нервной системы.

4. Тёмные, светлые и прогениторные субтипы клеток I типа, а также пенистость их цитоплазмы являются не результатом структурных изменений при заболеваниях сердечно-сосудистой и дыхательной систем, а следствием воздействия аутолиза и формалиновой фиксации ткани.

#### **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Достоверность результатов подтверждается достаточным количеством исследованных образцов ткани, воспроизводимостью результатов, использованием современных адекватных поставленным задачам методов, применением статистических методов обработки полученных данных, критическим анализом собственных результатов и сопоставлением их с данными других исследователей.

**Материалы диссертации доложены** на научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 2018 г), межлабораторной конференции ФГБНУ НИИМЧ (Москва, 2020 г), научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 2020 г).

#### **Личный вклад автора**

Автором был проведён анализ литературы, написан обзор, осуществлено планирование и проведение экспериментов, сбор аутопсийного материала, проведены гистологические, иммуногистохимические и морфометрические исследования, систематизация и статистический анализ полученных результатов, написание статей.

**Диссертация соответствует паспорту научной специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология** согласно пунктам 1, 2, 3.

#### **Публикации и внедрение**

По материалам диссертационной работы опубликовано 5 научных работ, в том числе 3 оригинальные статьи и 1 обзорная статья в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, рекомендованных для публикации

основных научных результатов диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук и учёной степени доктора наук.

**Основные результаты диссертационного исследования внедрены** в учебный процесс кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

### **Структура и объём диссертации**

Диссертация изложена на 156 страницах машинописного текста и состоит из глав: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, обсуждение результатов исследования, заключение, выводы, список сокращений и условных обозначений, список литературы, включающий 165 источников, из них 14 российских и 151 зарубежный. Работа иллюстрирована 48 рисунками, данные представлены в 9 таблицах.

## Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

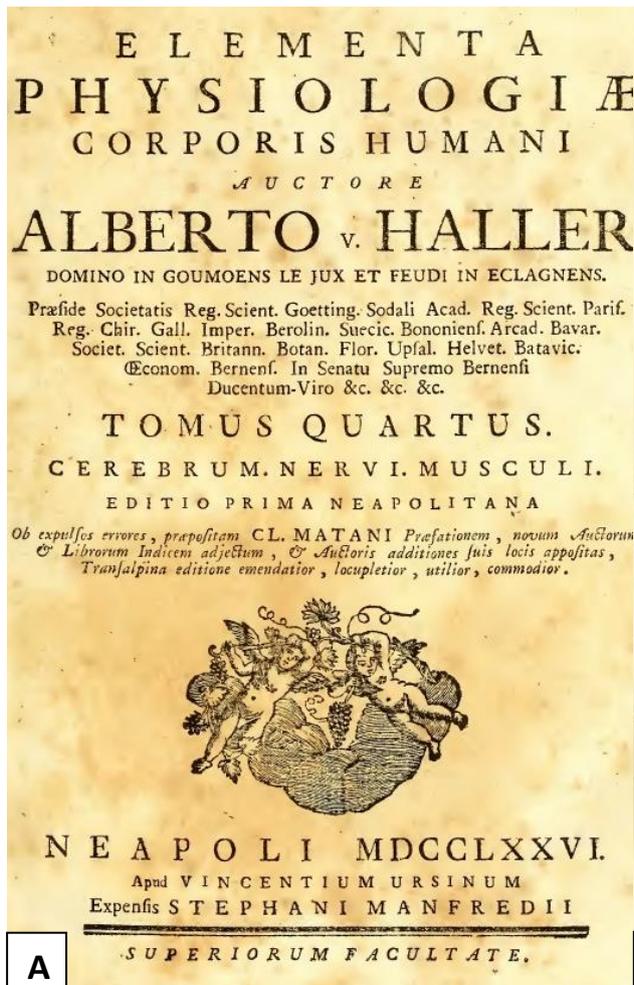
### 1.1. История изучения

Прежде чем перейти к обзору литературы, хотим обратить внимание на часто возникающую терминологическую путаницу, связанную с тем, что термин «каротидный клубочек» имеет множество синонимов, которые могут использоваться в различных иностранных и отечественных работах: каротидное тело, каротидный гломус, сонный гломус, *carotid body*, *carotid glomus*, *paraganglion caroticum*, *ganglion exiguum*, *ganglion intercaroti(di)cum*, *ganglion minutum*, *ganglion parvum*, *glomeruli arteriosi intercarotici*, *glomus caroticum*, *glandula carotica*, *Karotiskörper*, *Karotisdüse*, *Karotisglomus*, *intercarotid ganglion*, *nodulus intercaroticus*, *carotid gland* [54]. В данной работе мы придерживаемся международной анатомической номенклатуры, согласно которой данный орган следует называть каротидным клубочком.

Каротидный клубочек был впервые описан Hartvig Taube в диссертации 1743 года «*Dissertationem inauguralem de vera nervi intercostalis origine*» под названием «*ganglion minutuum*» [17,54]. В дальнейшем в своём известном труде «*Elementa Physiologiae Corporis Humani*» его учитель, Albrecht von Haller, приводит характеристику каротидного клубочка, называя его «*ganglion exiguum*» – маленький ганглий (Рис. 1) [55].

В промежутке между 1751-1755 годами Andersch описывает каротидный клубочек, называя его «*gangliolum intercaroticum*». В 1772 году Neubauer также пишет о данном органе, но именует его «*ganglion parvum*», а в 1833 году Mayer описывает его заново под названием «*ganglion intercaroticum*». Он уточняет, что в иннервации клубочка участвует языкоглоточный нерв. Valentin в 1833 году описывает артерию, кровоснабжающую орган, а Svitzer приходит к ошибочному заключению, что он иннервируется исключительно языкоглоточным нервом и симпатические волокна не участвуют в его иннервации [54].

Во второй половине XIX века наука располагала лишь анатомическими работами, которые ничего не могли сказать о структуре и функции данного органа.



SECT. III. NERVI. 169

Stoque majori colli musculo infidet. Vidi exiguum fuisse (r), ut unice nervum paulo crassiorum referret. Semper valde rubet, & abundat vasculis a thyreoidæ inferioris ramo (s) ascendente, & a pharyngea (t) natis.

In ganglion plurimos nervos & recipit, & edit vicissim. Recipit adeo a primo (u) cervicis nervo unum furculum duosve, aliumque a ramo, qui primum & secundum colli conjungit (x), & demum ex radice, quam is ramus ad ramum descendente nervi edit (y): alium autem a secundo cervicis (z), aut ejus ramo descendente (a) accipit, aut duos furculos, a tertio demum duas fere radices (b). Quartam sunt, qui addant (c), & femel vidi. Porro a parte nono (d) nonnunquam, aut certe ex ejus cum nervo primo anastomosi, & ab octavo aliquando (e) furculos habet.

Id tamen cum octavo vinculum non est ejusmodi, ut oportuerit nervum intercostalem pro octavi paris parte, & interiori quodam ramo habere, ut quidem etiam magnis viris olim excidit, Galeno (f), Carolo Stephano (g), Fallopio (h), Dominico de Marchetis (i), Richardo Læver (k). In animalibus equidem quadrupedibus archior hujus ganglii cum pari vago nexus est (l), neque tamen in omnibus (m). Ab octavo, parte siquidem Eustachii opera latebant, Willisius potissimum separavit (n).

Contra ex ganglio isto cervicali superiori prodeunt omnium nervi molles, quos ab ipsa re ita voco. Naturam nempe rubellam, mollemque, quæ est in nervo intercostali, carotidem arteriam comitante, hi in primis retinent. Duo sunt aut tres (o), & inferior major est. Iste (p) in divisione carotidis, sed pone ea vasa, plexum facit, in quo nonnunquam ganglion exiguum vidi. Ad eum plexum rami a trunco oclavi paris, & a laryngeo, & a pharyngeo ejus nervi ramo nati se admittunt. Ejus plexus ramuli, tum superiores nervi molles, primum carotidem arteriam adeunt, cumque omnibus ejus ramis externis labiali, temporalis (q), linguæ, thyreoidæ, pharyngeo (r), cum carotidis demum trunco sursum contra cerebrum, & deorsum per cervicem longiuscule producuntur, sine utique obscurissimo. Qui labialem sequitur, eum in glandulam usque maxillarem deduxi, & cum quinti tertio ramo ibi suspicor communicare (s). Qui temporalem sequitur, eum per tres pollicis,

Y

(r) Ita Mehelius in icone. Ovatum & breve Vidus t. 75. f. 12. Afsche f. 3. 4. le Cat. Non grande Vieussens. Ovatum & grandius Lancis. t. 6. f. 1.

(s) Foficus. II. in ejus art. hist.

(t) Falcie. III. in ejus art. hist.

(u) VVillii p. 346. VValtzer progr. I. Schmiedel diff. p. 4. VVinslow n. 37. Rau p. 111.

(x) Afsche f. 3. 4. VValtzer.

(y) P. 160.

(z) Anderssch, Eustach. tab. 18. 19. Vieussens t. 23.

(a) Mehel. l. c.

(b) Andersch. Unam Winslow, Eustach. utrinque Vieussens. Negat Waltherus.

(c) VVinslow n. 372.

(d) Schmiedel p. 4. Winslow n. 371.

(e) Mehel, Lancis. tab. 6. f. 1. H. Andersch, 21. Vieussens tab. 23. VVillii p. 346. t. 9. tab. 5. Multas fibras VVinslow n. 371. & Rarius esse Schmiedel p. 4.

(f) nerv. dissect. c. 10. de usu part. L. 9. c.

(g) K. 16. c. 5. Orifas. p. 172. Avicenn. p. 17.

(h) L. 1. c. 15.

(i) Observ. anat. p. 152. b. 153. Ex eo Vidus Vidus L. 3. c. 2. tab. 75. f. 12.

(j) P. 123. 124.

(k) De corde p. 24. fed & vulgo ita docebant Habicus D. IV. L. 7. Cerebr. vuln. cap. p. 158. Fournier anat. pacif. p. 26 &c.

(l) Willis p. 307. Petit Mem. de l'Acad. 1717. p. 4.

(m) Distinctos esse in leone Parisi; in simia Petit p. 5.

(n) P. 340. conf. de nerv. intercost. orig. n. 4.

(o) Tres Andersch.

(p) Andersch in ic. conf. le Cat. p. 299.

(q) Andersch.

(r) Andersch.

(s) Descripti cum ramis ad arterias euntibus tab. art. max. int. p. ult. & de origine nerv. intercost. n. 17.

Рис. 1. Титульная страница работы Галлера (А), страница с фрагментом текста, описывающим каротидный клубочек с окружающими его нервами (Б)

В 1862 году Luschka интерпретирует строение каротидного клубочка как скопление железистых трубочек и в соответствии с этим называет данный орган каротидной железой - «glandula carotica». В противоположность Luschka в 1865 году Arnold заявляет, что «железистые трубочки» являются всего лишь изогнутыми кровеносными сосудами, формирующими сосудистые клубочки, и вследствие этого даёт органу название «glomeruli arteriosi intercarotici» [54].

Это противоречие разделило эмбриологов на два лагеря. Одни считали, что орган, будучи железой, имеет энтодермальное происхождение, а вторые — мезодермальное.

Важной вехой в изучении нейроэндокринных органов стали работы Alfred Kohn, который впервые ввёл понятие системы параганглиев. Используя методы окраски тканей солями хрома, открытыми впервые Bertholdus Werner в 1857г. и

более подробно описанными Henle в 1865г. [56], Kohn предложил термин «хромаффинная клетка» для тех из них, которые окрашивались в коричневый цвет под действием солей хрома [57]. В дальнейшем он показал, что часть клеток каротидного клубочка относятся к хромаффинным. С работами Alfred Kohn вполне согласуется исследование Stilling, выделившего «типичные», формирующие основную массу органа, и «хромофильные» клетки [54]. Однако множество авторов отмечало, что хромаффинные клетки довольно редко встречаются в каротидном клубочке, а зачастую вообще отсутствуют [54].

В начале XX века, параллельно с исследованием клубочка, целый ряд учёных занимался изучением нервной регуляции сердечно-сосудистой и дыхательной деятельности. Тогда в научной среде доминировала теория французского учёного François-Franck [13]. Согласно этой теории, начальное звено сосудодвигательного рефлекса находилось в стволе головного мозга. Однако в 1900 году итальянские учёные Pagano и Siciliano предположили, что начальным звеном кардио-респираторного рефлекса у человека является синокаротидный регион [13].

Позднее, в 20х годах XX века, немецкий учёный Heinrich Hering продемонстрировал, что электрическое и механическое возбуждение каротидного синуса вызывает брадикардию и снижает артериальное давление. Таким образом, наблюдения Pagano, Siciliano и Hering вступали в явное противоречие с доминирующей теорией [13]. И хотя работы этих авторов первое время игнорировались, они создали предпосылки, на которых в дальнейшем выстроилась современная научная парадигма, предписывающая каротидному клубочку роль хемочувствительного органа.

В истории изучения структуры и функции каротидного клубочка исследователи особо выделяют работы испанского гистолога Fernando de Castro и бельгийских физиологов Jean-François Heumans и его сына Corneille Jean François Heumans.

Fernando de Castro изучал как каротидный клубочек, так и каротидный синус. Автор тщательно исследовал нервные волокна органа и установил, что основную иннервацию клубочек получает от ветви языкоглоточного нерва. Помимо этого, в

орган входят волокна от симпатического верхнего шейного ганглия и в меньшей степени от блуждающего нерва [13].

Согласно его экспериментам по перерезке языкоглоточного нерва на разных уровнях, каротидный клубочек обладает в основном афферентной иннервацией. Суммируя полученные данные, de Castro предположил, что функция органа состоит в обнаружении качественных изменений в химическом составе крови и влиянии на активность других органов посредством рефлекторного воздействия. Кроме того, он выдвинул гипотезу, согласно которой роль каротидного синуса заключается измерении давления в сонных артериях [13].

Независимо от de Castro в Бельгии, в городе Гент, вели своё исследование отец и сын Neumans. Ознакомившись с работами de Castro, в 1931 Corneille Neumans с сотрудниками публикует результаты, показывающие роль каротидного клубочка в синокаротидном рефлексе в ответ на изменение химического состава крови [13,54].

Таким образом, к концу 30х годов была создана теория, предполагающая хеморецепторную роль каротидного клубочка. А в 1938 году «за открытие роли синусного и аортального механизмов в регуляции дыхания» Corneille Jean François Neumans был удостоен Нобелевской премии [13].

С тех пор практически все работы по изучению анатомии, гистологии, ультраструктуры и молекулярных механизмов работы этого органа проводились в рамках этой теории. За органом по умолчанию признавалась хеморецепторная функция, а любые эмпирические данные трактовались и до сих пор трактуются с этих позиций.

XX век был богат на анатомические, гистологические и физиологические исследования каротидного клубочка.

В 1937 году Boyd, изучив 143 сонные артерии, установил значительную индивидуальную изменчивость синусного нерва [58]. Нервы, участвующие в иннервации каротидного клубочка, образовывали большое количество анастомозов. Аналогичные результаты получил Sheehan с соавторами [59].

Во второй половине XX века Heath D., Edwards C. и Harris P. продолжили изучать вариабельность расположения каротидного клубочка человека, его форму, массу и их изменения при различных патологических состояниях [19,60,61]. Из их работ видно, что орган обладает значительной индивидуальной изменчивостью, различаются как его размеры, так и форма и расположение. Оказалось, что орган не всегда кровоснабжается одной артерией. Таким образом, была показана значительная вариабельность макроскопического строения каротидного клубочка.

Comroe в 1939г., а затем Gernandt в 1946г. показали, что возбуждение периферических хеморецепторов у животных вызывает рефлекторную гипервентиляцию лёгких, а также приводит к увеличению артериального давления [54]. Watt с коллегами обнаружил, что каротидный клубочек в первую очередь реагирует на аноксию, так как при выведении из рефлекторной дуги органа и аортальных телец происходит угнетение ответа организма на отсутствие кислорода [54]. В дальнейшем исследования целого ряда физиологов установили, что клубочек реагирует на изменения парциального давления кислорода сильнее, чем на изменение парциального давления углекислого газа и pH крови [54,62].

В 1951 году Daly и Schweitzer исследуют влияние активации каротидного клубочка на моторику бронхов [63]. Позднее Nadel и Widdicombe занялись тем же, немного модифицировав эксперимент [64]. Результаты двух групп учёных оказались противоречивыми. Согласно первым, возбуждение хеморецепторов каротидного клубочка вызывает бронходилатацию, в то время как активация барорецепторов каротидного синуса – бронхоконстрикцию. Согласно вторым – наоборот.

Несмотря на то, что это противоречие до сих пор не нашло объяснения, данный факт натолкнул некоторых хирургов на мысль о возможности лечения бронхиальной астмы путём воздействия на каротидный клубочек.

Первым из хирургов, выполнившим операцию гломэктомии (удаление каротидного клубочка) при бронхиальной астме стал японский хирург Nakayama [65]. В декабре 1961 года он представил свой способ лечения бронхиальной астмы, выполненный на 3914 пациентах. Результаты оказались ошеломляющими, поэтому

вскоре уже множество западных и отечественных хирургов начали применять метод Nakayama. Применялась как односторонняя, так и двухсторонняя резекция каротидного клубочка.

К сожалению, преждевременная радость сменилась разочарованием [65]. Дальнейшее наблюдение за пациентами показало, что изначальное снижение частоты и силы приступов астмы было временным. Вскоре у многих из них приступы удушья возвращались, в единичных случаях становились даже более сильными. Помимо этого, у некоторых пациентов с двухсторонней гломэктомией также пропадал респираторный рефлекс на гипоксию [65,66].

Опубликованные результаты хирургов оказались противоречивыми. При тщательном рассмотрении работ, лишь малая доля из них включала в себя плацебо-контроль. Очень часто не проводилась гистологическая верификация удалённых тканей, а там, где она осуществлялась, отмечался значительный процент отсутствия каротидного клубочка в резецированном материале [65].

Противоречия обнаружились также и при изучении гистологии органа. Kohn и Stilling считали часть клеток органа хромаффинными. Но затем de Castro полностью отверг их хромаффинность, а Watzka вообще предложил отнести каротидный клубочек к нехромаффинным параганглиям [54].

Gomez в 1907 и 1908 годах подробнее описал гистологию органа, выделив в нём клетки двух типов [16]. Большую роль в исследовании ткани клубочка сыграл L. L. de Kock. Применяв технику серебрения по Холмсу, он подробно описал основные типы клеток органа, а также уточнил ход нервных волокон внутри него [21,67]. De Kock обратил внимание на подверженность ткани органа аутолитическим изменениям, которые могут значительно влиять на результаты исследования. Помимо этого, de Kock вслед за Meijling предположил нейральное происхождение клеток I типа [21]. Немного позднее Gould уточнил, что именно они получают иннервацию [68].

К середине XX века в исследованиях всё активней начинает применяться электронная микроскопия. Более высокое разрешение нового метода позволило глубже понять структуру органа. Множество авторов публикуют работы,

описывающие ультраструктуру каротидных клубочков различных видов животных. К 70м годам благодаря их усилиям проясняются особенности клеток I и II типов [16,62]. Исследуются характеристики нервных волокон, проходящих внутри органа. Получает распространение теория, согласно которой первичными хемочувствительными элементами клубочка являются клетки первого типа. Клетки второго типа считаются аналогами глиальных клеток нервной системы.

Однако с данной теорией, которая является доминирующей и в настоящее время, был категорически не согласен английский учёный Tim Viscio. Соглашаясь с ролью клеток II типа, он не считал первичным элементом клетки I типа. Английский учёный утверждал, что первичным сенсором являются свободные нервные окончания, обильно расположенные внутри органа [16].

Ещё более скептически были настроены двое отечественных учёных – Татьяна Андреевна Григорьева и Нина Александровна Смиттен. Обе являлись ученицами выдающегося нейрогистолога Бориса Иннокентьевича Лаврентьева. Используя сравнительно-анатомический метод на обширном материале различных видов животных, авторы не ограничились изучением одного лишь каротидного клубочка. Они рассматривали морфологию и физиологию органа совместно с симпато-адреналовой, нервной и сердечно-сосудистой системами.

Именно комплексное системное изучение каротидного клубочка позволило им исправить некоторые ошибки узконаправленных исследований. Общий вывод работы Григорьевой гласит, что параганглии, и каротидный клубочек в том числе, являются эндокринными органами, имеющими тесные отношения к регуляции моторики сосудов путём продукции катехоламинов [69].

Смиттен показала, что параганглионарная ткань не развивается либо упрощается там, где идёт атрофия сосудистых структур, например, таких как жаберные артериальные дуги. Из её работы следует вывод: нет специальных хеморецепторных органов, а есть хеморецепторная функция, свойственная любому органу и обязанная своим существованием рефлекторной деятельности нервной системы. Таким образом, каротидный клубочек имеет рудиментарный характер. По

мнению Смиттен, каротидный клубочек и подобные ему органы – «следы филогенетического прошлого хромаффинной ткани» [17].

Согласно Григорьевой и Смиттен, каротидный клубочек правильнее считать тканевой структурой, доставшейся млекопитающим в результате эволюции хромаффинной ткани [17,69].

Хотя результаты работ Григорьевой и Смиттен весьма убедительны, они остались незамеченными для мировой науки. С 80х годов и до настоящего момента изучение каротидного клубочка перешло в область молекулярной биологии. Анализируется экспрессия генов при различных физиологических состояниях и в патологии, но делается это в отрыве от целого организма. Любые обнаруженные изменения в экспрессии генов, заряда мембраны, уровня тех или иных веществ и нейромедиаторов трактуются чаще всего с позиции единственной хеморецепторной функции клеток клубочка.

Таким образом, история показывает, насколько трудными и противоречивыми были исследования каротидного клубочка. Изучение одной структуры в отрыве от целого организма привело исследователей к созданию теории, согласно которой роль органа ограничена лишь хеморецепторными функциями. Не понимая взаимосвязь элементов целого, учёные до сих пор не могут правильно трактовать некоторые изменения, наблюдаемые в изолированных элементах органа в эксперименте. Это привело к совершенно неверной оценке некоторых морфологических структур каротидного клубочка и выполняемых ими функций.

## **1.2. Анатомия и топография**

### ***1.2.1. Форма, размер и расположение***

Каротидный клубочек – маленький парный орган серого или серо-коричневого цвета, располагающийся в области бифуркации сонной артерии [60]. Орган лежит среди богато васкуляризированных волокон соединительной ткани, формирующих у человека слабовыраженную тонкую капсулу [70]. У нижнего полюса каротидного клубочка соединительнотканые волокна становятся более упорядоченными и формируют связку, фиксирующую орган к сонной артерии, –

связку Майера [54,70]. В ней проходят артерия, отвечающая за кровоснабжение органа, а также нервы [70].

Чаще всего орган находится непосредственно в углу, образованном при делении общей сонной артерии на внутреннюю и наружную. Помимо этого, каротидный клубочек иногда располагается на наружной сонной артерии или внутренней сонной артерии в области каротидного синуса. Редко его можно обнаружить на восходящей глоточной артерии и общей сонной артерии [61,71] (Таблица 1).

Таблица 1

Частота встречаемости расположения каротидного клубочка по данным Smith et al. [32] и Khan et al. [20] в процентах (исследовано 500 артерий от 250 человек)

Расположение	Справа	Слева	С обеих сторон
Бифуркация сонной артерии	87,2	87,2	87,2
Наружняя сонная артерия	5,6	6,4	6
Внутренняя сонная артерия	5,2	3,6	4,4
Восходящая глоточная артерия	1,6	2,4	2
Общая сонная артерия	0,4	0,4	0,4

В литературе также описан случай односторонней агенезии каротидного клубочка у пациентки 53 лет, у которой полностью отсутствовала правая общая сонная артерия [72]. Автору наблюдения после тщательной препаровки языкоглоточного нерва не удалось найти синусный нерв Геринга, помимо этого отсутствовал каротидный синус. Из данного наблюдения можно предполагать, что индуктором развития каротидного клубочка является часть клеток третьей жаберной дуги.

Каротидный клубочек чаще всего имеет овоидную форму, намного реже встречается двудольная, в таком случае орган напоминает букву V, направленную основанием к артерии, питающей клубочек. Иногда отмечается удвоение органа, когда два каротидных клубочка находятся с одной стороны. В этом случае обе части располагаются чаще всего близко друг к другу, причём суммарный вес их равен среднему весу одиночного каротидного клубочка [61,71]. Достаточно редко встречается листовидная форма каротидного клубочка [61] (Таблица 2). Некоторые вопросы возникают в отношении узловатой формы каротидного клубочка.

Полагают, что она может быть ассоциирована с патологическими процессами [71], такими как гиперплазия, но также может быть связана с недостаточно тщательной препаровкой, в связи с чем на поверхности остаются очаги жировой ткани [61].

Таблица 2

Частота встречаемости форм каротидного клубочка по данным Smith et al. [32] и Khan et al. [20] в процентах (исследовано 500 артерий от 250 человек)

Форма	Справа	Слева	С обеих сторон
Одиночная овоидная	90	90,4	90,2
Удвоенная овоидная	5,2	3,6	4,4
Двудольная	4,4	5,6	5
Листовидная	0,4	0,4	0,4

Размеры каротидного клубочка варьируются от 1,8x1,2x0,7 до 6,2x3,5x2,8 мм [19]. Масса каротидного клубочка составляет от 1,9 до 47,4 мг со средним значением 12,9 мг [19]. Имеются некоторые противоречия, касающиеся изменения размеров органа с возрастом. Так, одни авторы считают, что орган подвержен атрофии с возрастом, другие, наоборот, заявляют о его увеличении [54].

Данное противоречие, вероятно, объясняется гипертрофией органа у лиц, страдающих от хронической гипоксии, вызванной, к примеру, проживанием в условиях высокогорья или различными заболеваниями, сопровождающимися развитием хронической сердечно-сосудистой и дыхательной недостаточности. Также отмечается положительная корреляция между массой каротидного клубочка и массой левого и правого желудочка сердца [19,71].

### ***1.2.2. Кровоснабжение***

Каротидный клубочек кровоснабжается собственной – гломусной – артерией, проходящей в вышеупомянутой связке Майера. Как само расположение органа, так и место выхода артерии варьируемо. Чаще всего артерия отходит от бифуркации общей сонной артерии, но также встречается отхождение от наружной и внутренней сонной артерии, от восходящей глоточной и верхней щитовидной артерии. Помимо этого, возможны варианты кровоснабжения каротидного клубочка двумя и более артериями, выходящими независимо друг от друга от вышеперечисленных магистральных артерий (Рис. 2) [54,73,74].

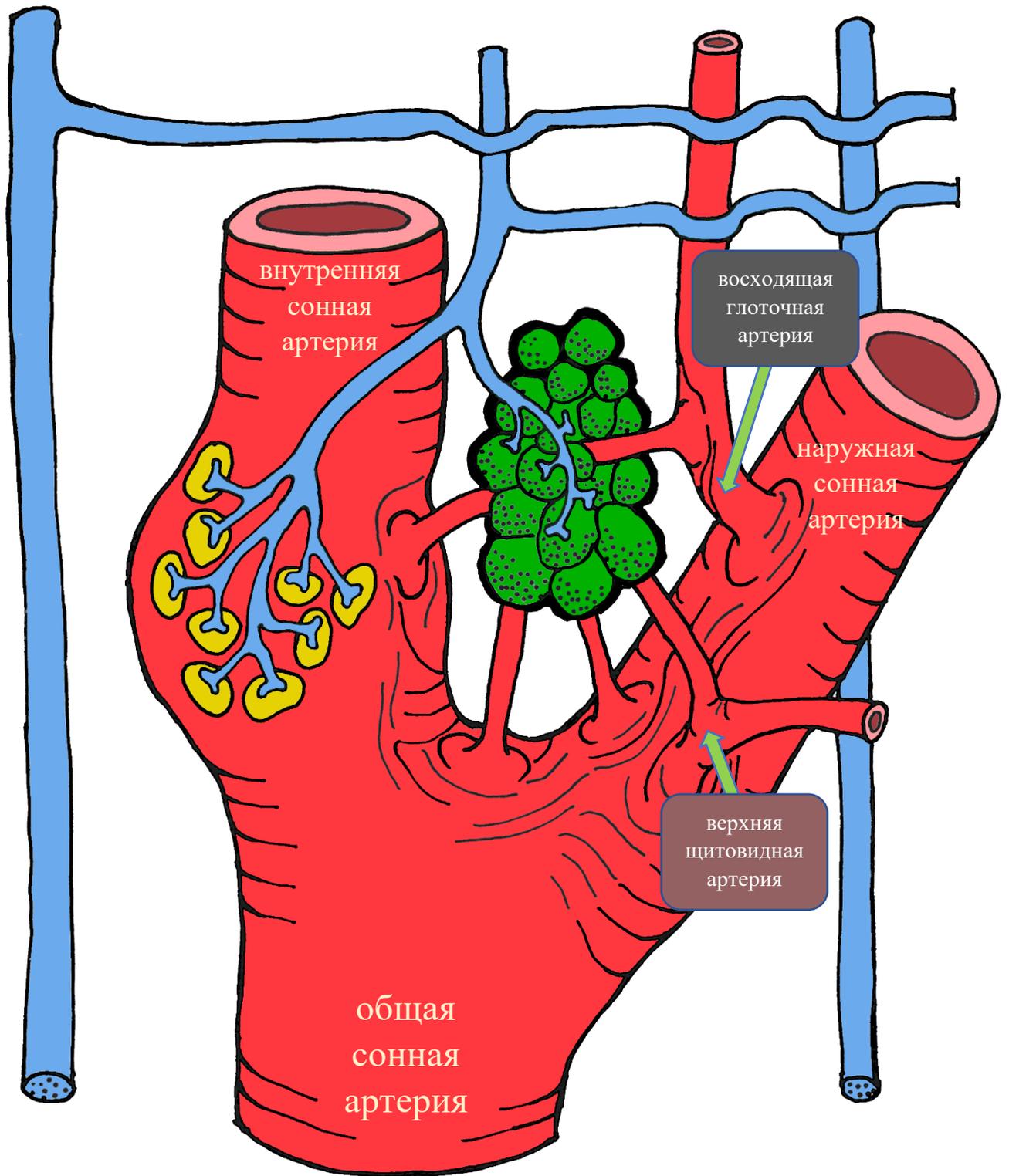


Рис. 2. Различные варианты отхождения гломусной артерии по Zak et al. [10], Heath et al. [34] и Jago et al [35]. Синим обозначены нервы, жёлтым – барорецепторы каротидного синуса, зелёным – каротидный клубочек

Стоит отдельно упомянуть морфологическую особенность глобусных артерий. Их длина колеблется от 1-2 до 3,5-4 мм, диаметр просвета у устья составляет от 150 до 200 мкм при толщине стенки от 25 до 60 мкм [73,74]. Главной особенностью данных сосудов является эластический тип строения стенки, в то время как остальные сосуды организма данного калибра и размеров имеют в основном мышечный тип строения [73–75].

Приближаясь к каротидному клубочку, диаметр артерий сужается, они могут либо входить в каротидный клубочек единым стволом и делиться уже внутри органа, образуя междольковые артерии [73], либо начать деление на более мелкие артериальные стволы до вхождения в нижний полюс каротидного клубочка, в дальнейшем также делясь на междольковые артерии [74].

Строение стенки глобусных артерий неоднородно на всём их протяжении. Она состоит в основном из циркулярных пучков эластических волокон различной толщины с незначительным количеством коллагеновых волокон, мелких фибробластов и гладкомышечных клеток [73–75]. Проксимальнее интима отделена от меди прерывистой эластической мембраной, но ближе к каротидному клубочку граница между слоями становится трудноразличимой [73]. Также в меди обнаруживается большое количество немиелинизированных нервных волокон, что может свидетельствовать о барорецепторной функции [73–75]. Интима артерий выстлана в основном уплощёнными эндотелиальными клетками [74].

Не вполне стандартную картину описывают Donald Heath и Christopher Edwards у пациентки 21 года, умершей от внутримозгового кровоизлияния, развившегося из-за разрыва сосудистой гамартмы [73]. В интима глобусных артерий с обеих сторон было обнаружено большое скопление круглых слабо окрашивающихся клеток, напоминающих клетки I-типа каротидного клубочка. В результате этого просвет артерий был резко сужен. Молодой возраст пациентки и отсутствие выраженных сосудистых патологий дали авторам повод отнести данные изменения к варианту нормального строения артерий. Тем не менее, роль и происхождение этих клеток остаются неясными.

Пройдя через каротидный клубочек, кровь собирается венулами, проходящими между дольками в соединительнотканых перегородках. Венулы, имея радиальный ход, переходят в большое количество мелких вен, расположенных в капсуле и соединительной ткани, окружающей орган. В отличие от артериальных сосудов, напоминающих ветвлением ствол и крону дерева, вены образуют сплетение, практически полностью окружающее каротидный клубочек [54,75].

У верхнего полюса органа венозное сплетение становится более выраженным, появляются более крупные вены, собирающие кровь, которая оттекает от каротидного клубочка [54]. В дальнейшем вены, проходя по межкаротидному пространству, впадают в глоточные, верхние гортанные и язычные вены [54].

Помимо прямого тока крови через капилляры у многих млекопитающих обнаружены многочисленные артериовенозные анастомозы, расположенные в основном по периферии органа [76–80]. Но Donald Heath с коллегами не обнаружил подобные анастомозы на серийных срезах каротидного клубочка у человека [75].

### ***1.2.3. Иннервация***

Учитывая довольно сложную анатомию и топографию нервов и образуемых ими нервных сплетений области лица и шеи, не стоит удивляться большому количеству противоречий в работах, освещающих иннервацию каротидного клубочка. Это обстоятельство можно объяснить несовершенной техникой препаровки материала, ошибками исследователей, но, вероятно, наибольшее значение имеет индивидуальная изменчивость хода нервов.

Общепризнанным является утверждение об основной роли языкоглоточного нерва (IX) в иннервации каротидного клубочка. Наиболее часто, но не всегда, иннервация осуществляется посредством его ветви – нервом каротидного синуса, или синусным нервом (синонимы: нерв Геринга, межкаротидный нерв, нерв де Кастро, нисходящая ветвь языкоглоточного нерва) [13,16,54,62,81,82].

Языкоглоточный нерв выходит несколькими корешками из продолговатого мозга в борозде позади от оливы над блуждающим нервом, и вместе с последним

покидает череп через яремное отверстие [83]. Несколько миллиметров ниже яремного отверстия от языкоглоточного нерва отходит синусный нерв одним или двумя стволиками, которые в дальнейшем сливаются и образуют единый ствол.

Однако Boyd отмечает, что в некоторых случаях нерв после слияния снова делится на два или более стволиков [58]. Синусный нерв идёт параллельно блуждающему нерву близко к внутренней сонной артерии. Он может располагаться антеромедиально либо антеролатерально, либо спереди по отношению к внутренней сонной артерии [82]. В некоторых случаях синусный нерв может отходить от языкоглоточного нерва внутри полости черепа либо наоборот на значительном расстоянии (до 4 см) от яремного отверстия [84].

В своей терминальной части синусный нерв делится на множество ветвей, часть которых иннервирует барорецепторы каротидного синуса, другая часть – каротидный клубочек, входя в орган чаще всего в верхней его части [81,82]. На своём пути синусный нерв имеет множество соединительных ветвей с близлежащими нервами. Данные соединительные ветви в большинстве случаев отходят от блуждающего нерва и шейного симпатического ствола. Причём от одного лишь блуждающего нерва может отходить более, чем одна соединительная ветвь.

Довольно часто соединительные ветви отходят от глоточной ветви блуждающего нерва либо его нижнего ганглия, реже присутствуют соединительные ветви синусного нерва с верхним шейным ганглием [82,84]. Из вышесказанного ясно, что терминальные ветви самого синусного нерва, подходящие к каротидному клубочку, могут содержать волокна, идущие не только от языкоглоточного нерва.

Несмотря на то, что большинство работ свидетельствуют о решающем вкладе в иннервацию каротидного клубочка синусного нерва, вероятно, это не всегда так. Sheehan с соавторами по результатам 33 секций сообщает, что каротидный клубочек также может получать иннервацию от межкаротидного сплетения, образованного ветвями языкоглоточного и блуждающего нервов и симпатического ствола, в то время как синусный нерв может иннервировать только каротидный

синус, не отдавая ветвей к каротидному клубочку [84]. Данный вариант анатомического строения не подтверждается работами Gerard и Billingsley [81] и Тоогор [82]. Однако выборка в данных работах была значительно меньше – 2 и 12 человек соответственно.

Помимо этого, к каротидному клубочку могут прямо подходить нервные волокна из верхнего шейного ганглия [81]. Кроме вышеперечисленных нервов Switzer в 1863 году сообщил о возможном участии подъязычного нерва (XII) в иннервации каротидного клубочка [81,84], однако ни в одном другом исследовании данное положение подтвердить не удалось [81,82,84].

В свою очередь не все волокна, подходящие к каротидному клубочку, иннервируют его. Часть волокон, проходя по поверхности органа к нижнему полюсу, не заходит внутрь органа, другая часть пронизывает орган насквозь, не отдавая нервных терминалей, и также выходит у нижнего полюса [81,84]. В дальнейшем обе части волокон входят в связку Майера и доходят до каротидного синуса либо до наружной сонной артерии [84].

Для большей наглядности вышеперечисленные описания вариантов иннервации схематично изображены на Рис. 3-11.

Всё вышесказанное свидетельствует о большой индивидуальной изменчивости, как самого органа и его топографии, так и его кровоснабжения и, особенно, иннервации. Последнее требует особого внимания от хирургов, проводящих операции в данной области, вне зависимости от цели хирургического вмешательства. Данные макроскопической анатомии также необходимы для верной трактовки как собственных результатов, так и работ других авторов.

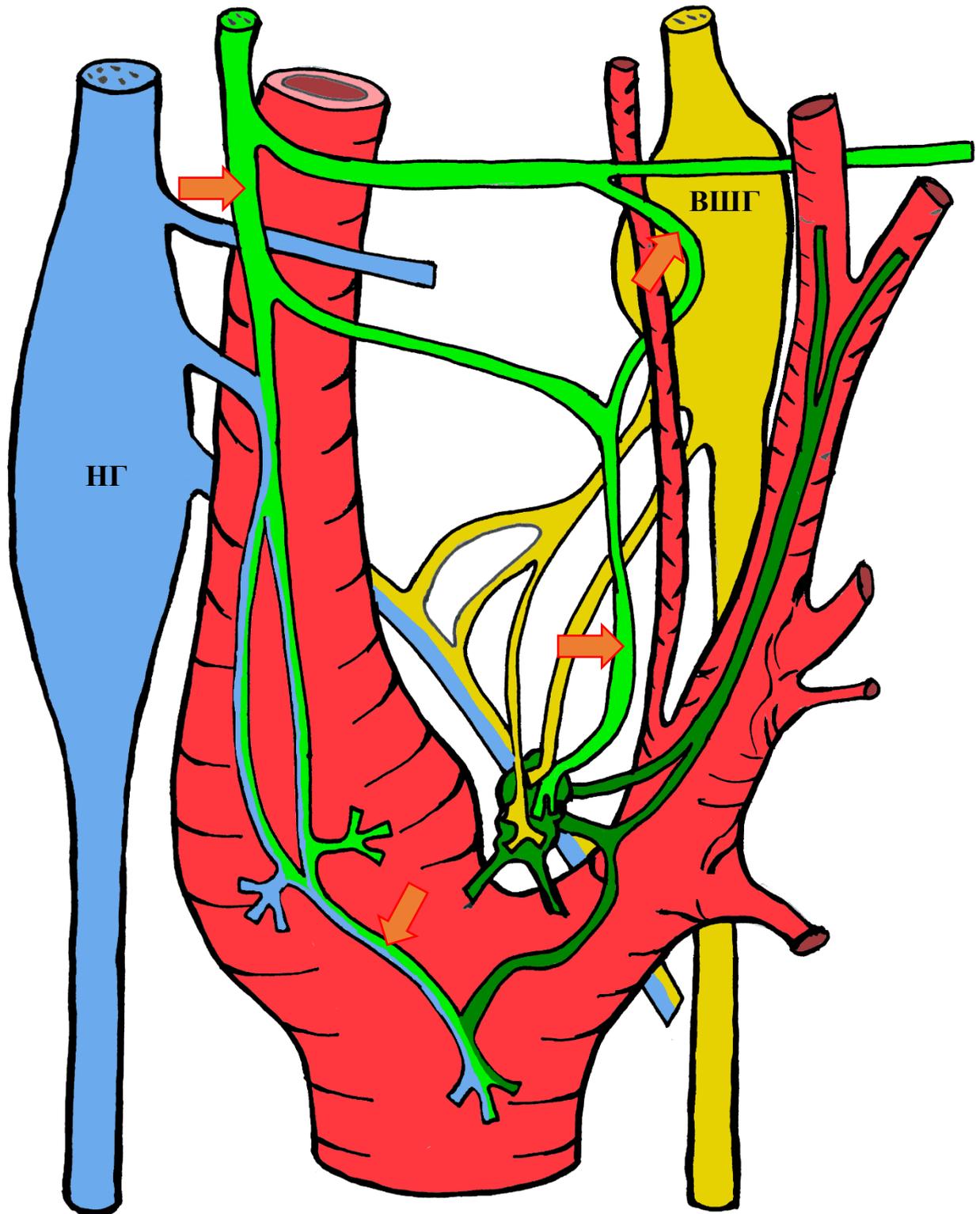


Рис. 3. Ход нервных волокон, иннервирующих каротидный клубочек, по Sheehan и Mulholland [45]. Блуждающий нерв и его ветви обозначены синим, языкоглоточный нерв и его ветви – зелёным, симпатические нервные волокна – жёлтым, НГ – нижний ганглий блуждающего нерва, ВШГ – верхний шейный ганглий, стрелка – синусный нерв и его ветви

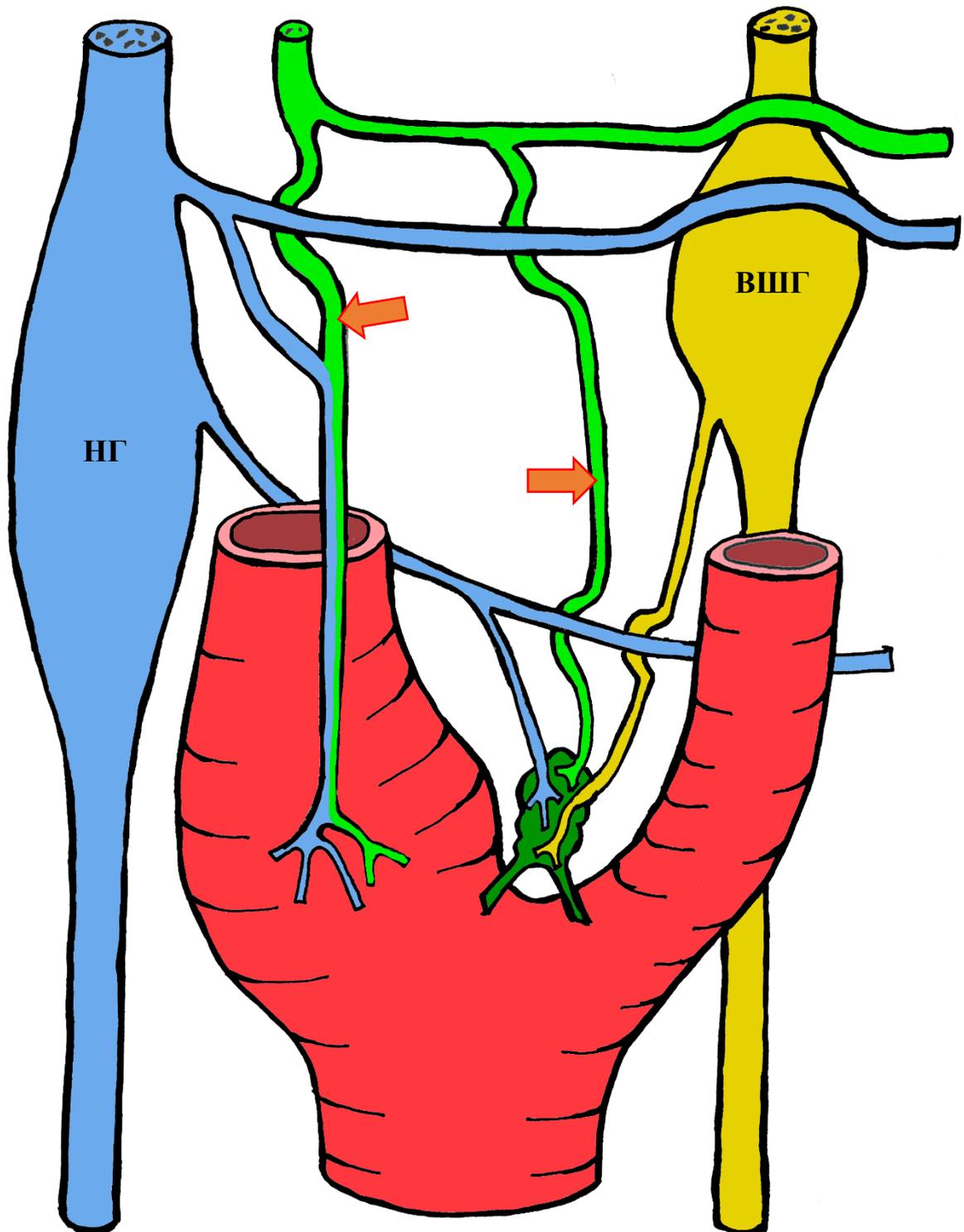


Рис. 4. Ход нервных волокон, иннервирующих каротидный клубочек, по Sheehan и Mulholland [45]. Блуждающий нерв и его ветви обозначены синим, языкоглоточный нерв и его ветви – зелёным, симпатические нервные волокна – жёлтым, НГ – нижний ганглий блуждающего нерва, ВШГ – верхний шейный ганглий, стрелка – синусный нерв и его ветви

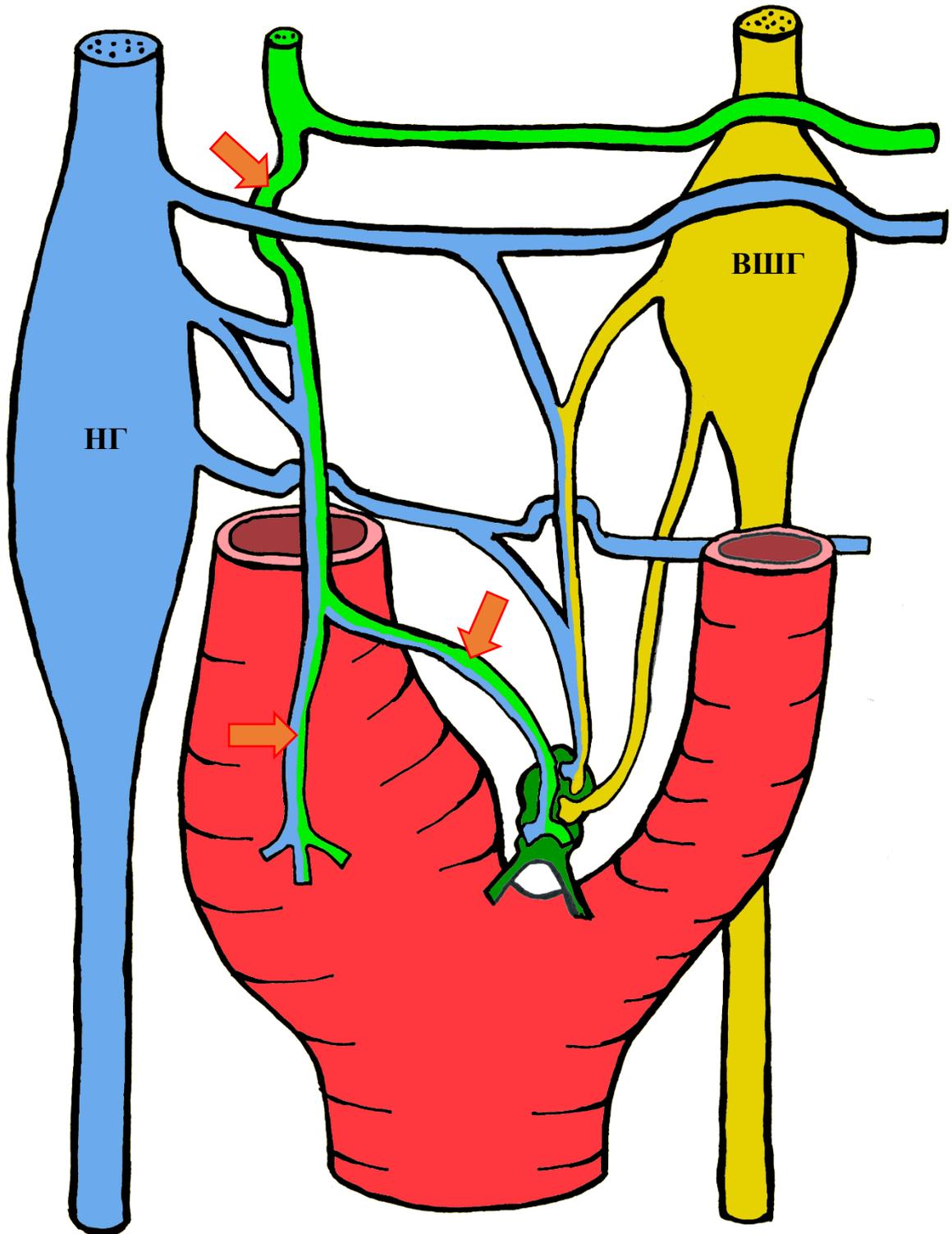


Рис. 5. Ход нервных волокон, иннервирующих каротидный клубочек, по Sheehan и Mulholland [45]. Блуждающий нерв и его ветви обозначены синим, языкоглоточный нерв и его ветви – зелёным, симпатические нервные волокна – жёлтым, НГ – нижний ганглий блуждающего нерва, ВШГ – верхний шейный ганглий, стрелка – синусный нерв и его ветви

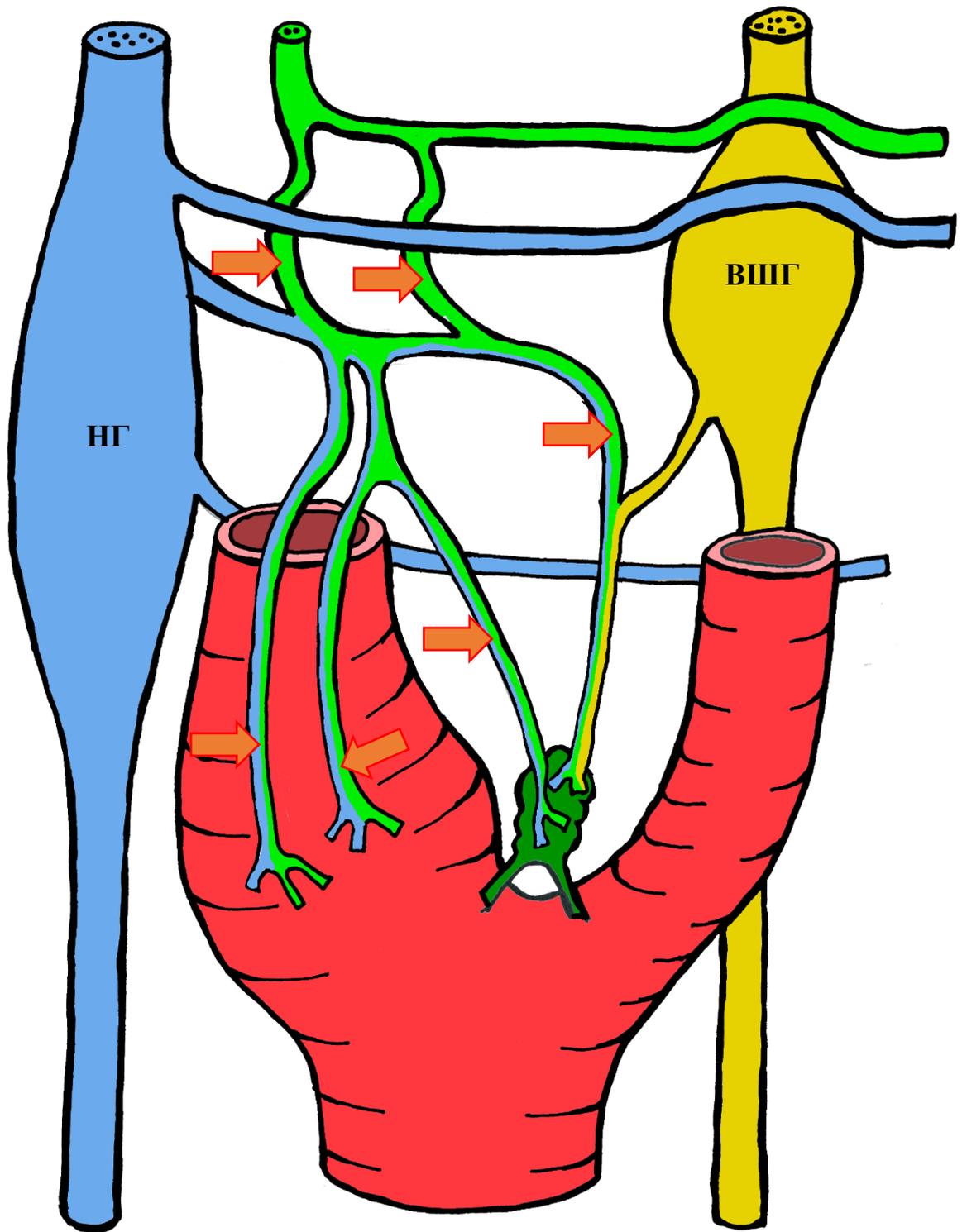


Рис. 6. Ход нервных волокон, иннервирующих каротидный клубочек, по Sheehan и Mulholland [45]. Блуждающий нерв и его ветви обозначены синим, языкоглоточный нерв и его ветви – зелёным, симпатические нервные волокна – жёлтым, НГ – нижний ганглий блуждающего нерва, ВШГ – верхний шейный ганглий, стрелка – синусный нерв и его ветви

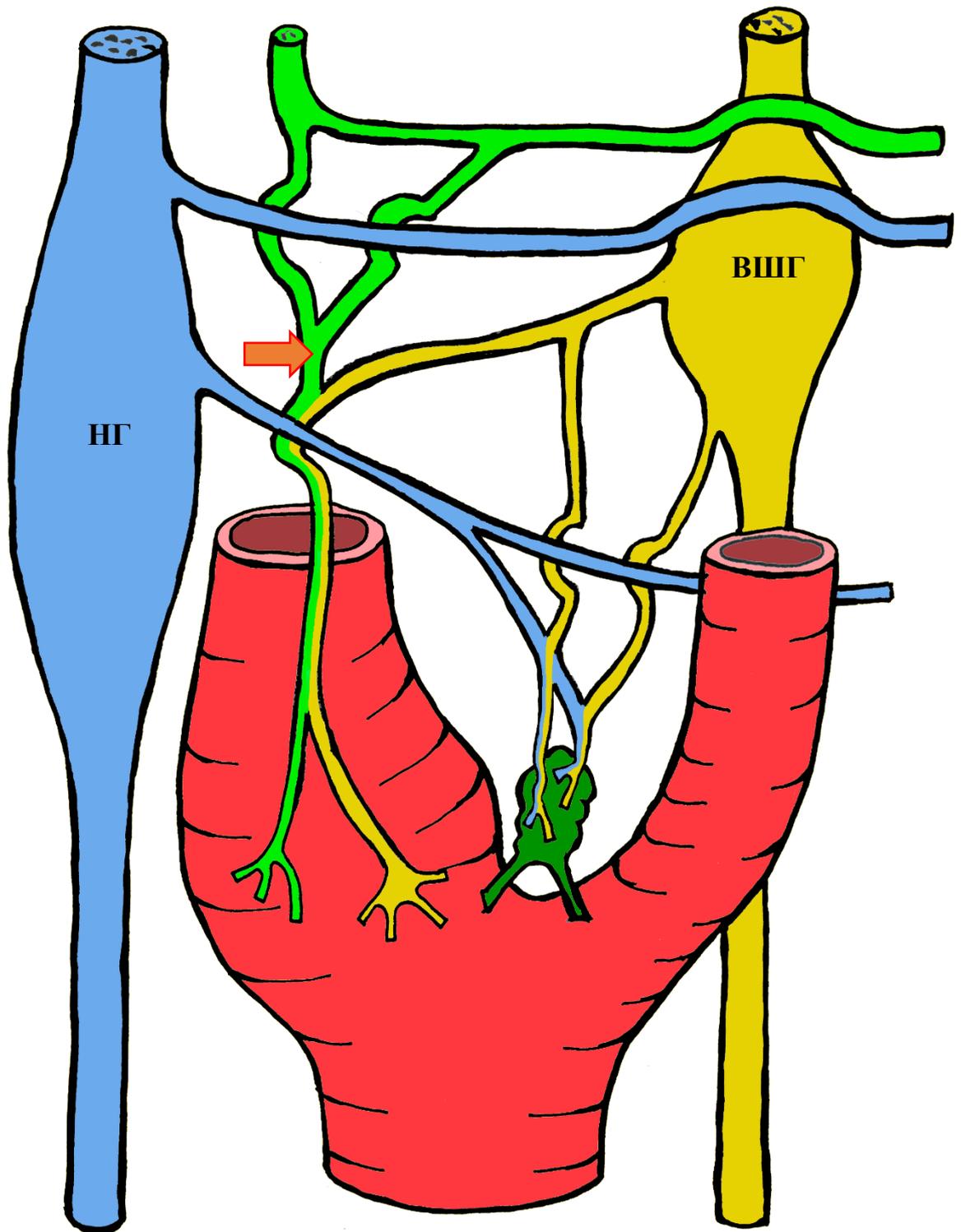


Рис. 7. Ход нервных волокон, иннервирующих каротидный клубочек, по Sheehan и Mulholland [45]. Блуждающий нерв и его ветви обозначены синим, языкоглоточный нерв и его ветви – зелёным, симпатические нервные волокна – жёлтым, НГ – нижний ганглий блуждающего нерва, ВШГ – верхний шейный ганглий, стрелка – синусный нерв и его ветви

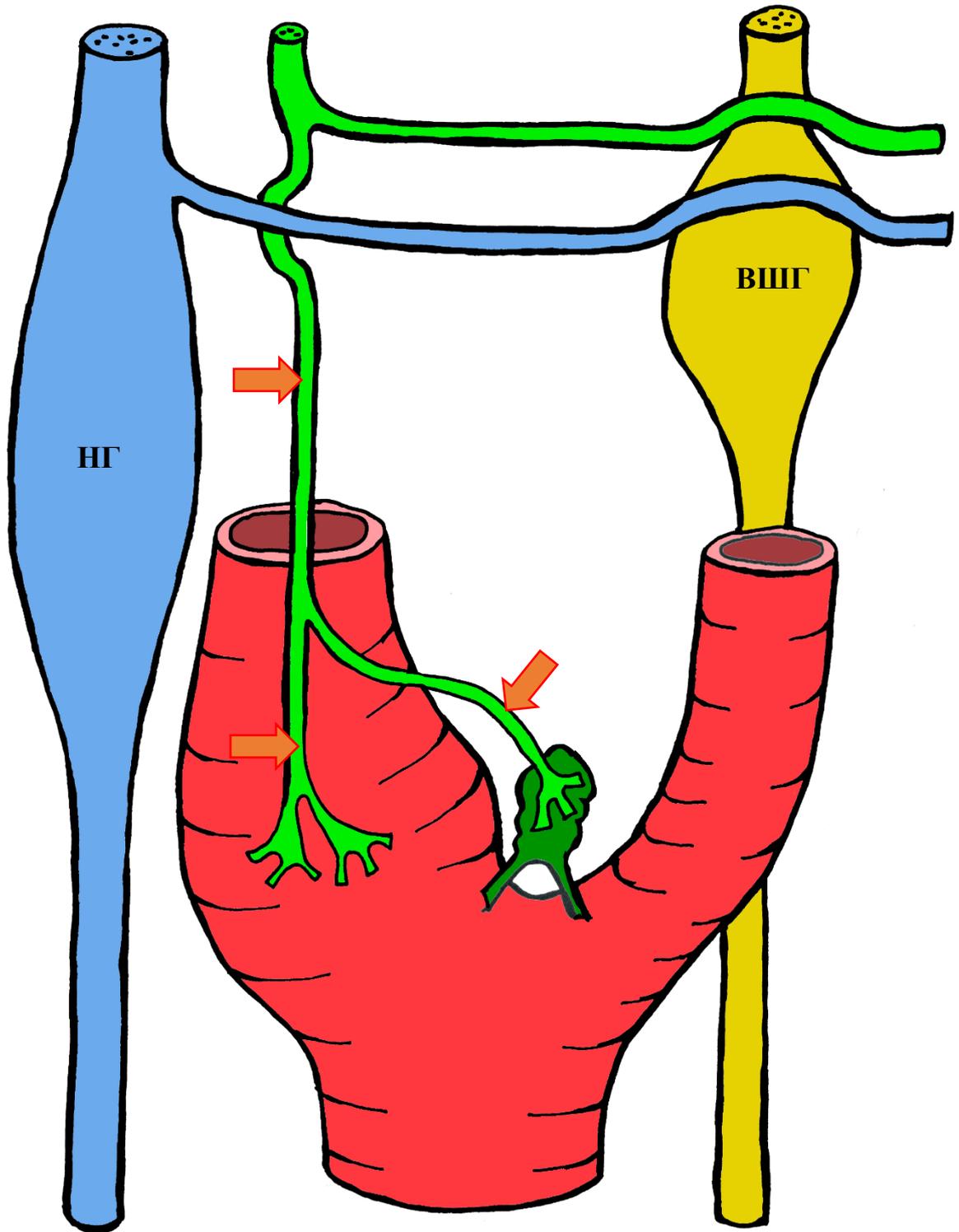


Рис. 8. Ход нервных волокон, иннервирующих каротидный клубочек, по Тоогор [43]. Блуждающий нерв и его ветви обозначены синим, языкоглоточный нерв и его ветви – зелёным, симпатические нервные волокна – жёлтым, НГ – нижний ганглий блуждающего нерва, ВШГ – верхний шейный ганглий, стрелка – синусный нерв и его ветви

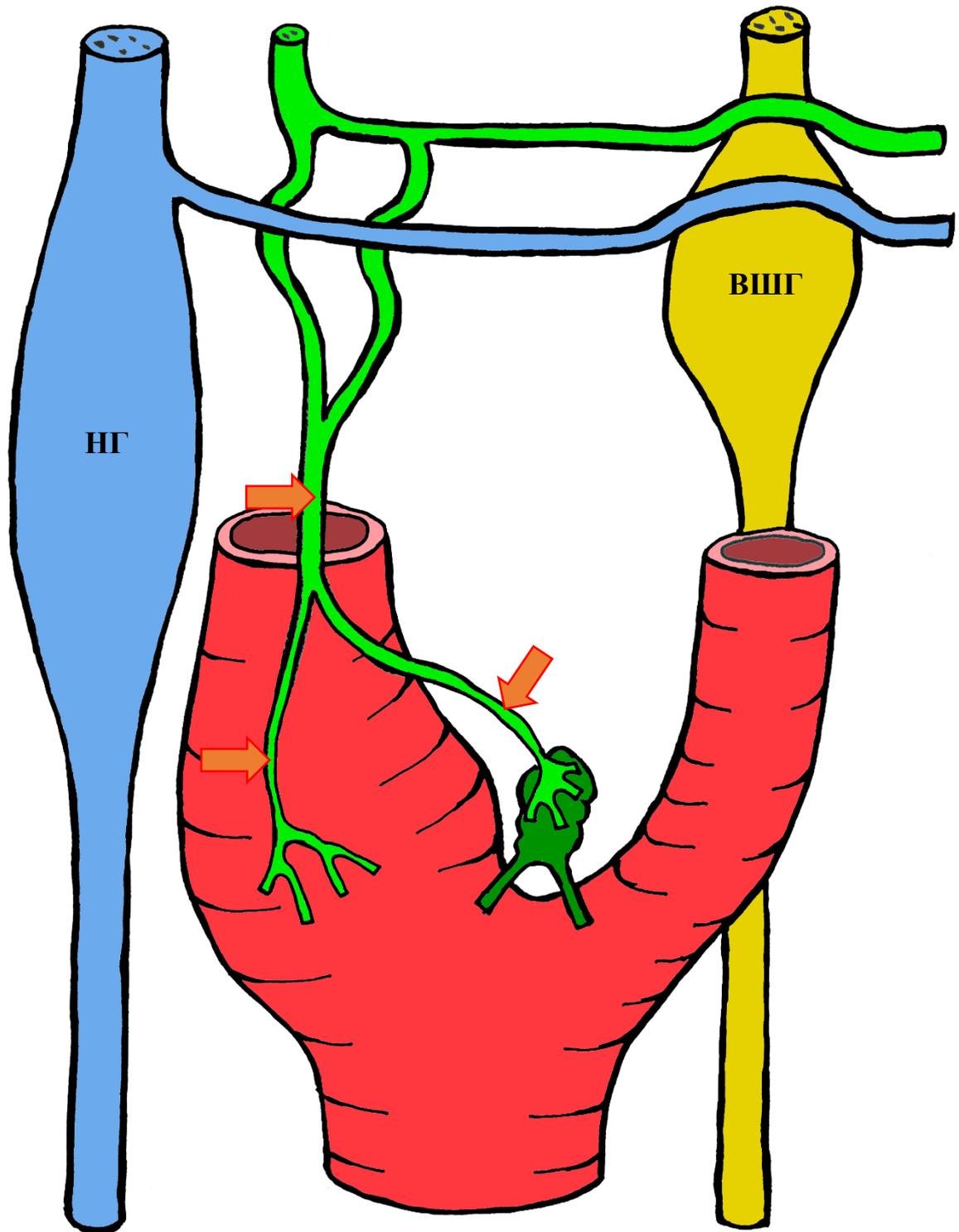


Рис. 9. Ход нервных волокон, иннервирующих каротидный клубочек, по Тоогор [43]. Блуждающий нерв и его ветви обозначены синим, языкоглоточный нерв и его ветви – зелёным, симпатические нервные волокна – жёлтым, НГ – нижний ганглий блуждающего нерва, ВШГ – верхний шейный ганглий, стрелка – синусный нерв и его ветви

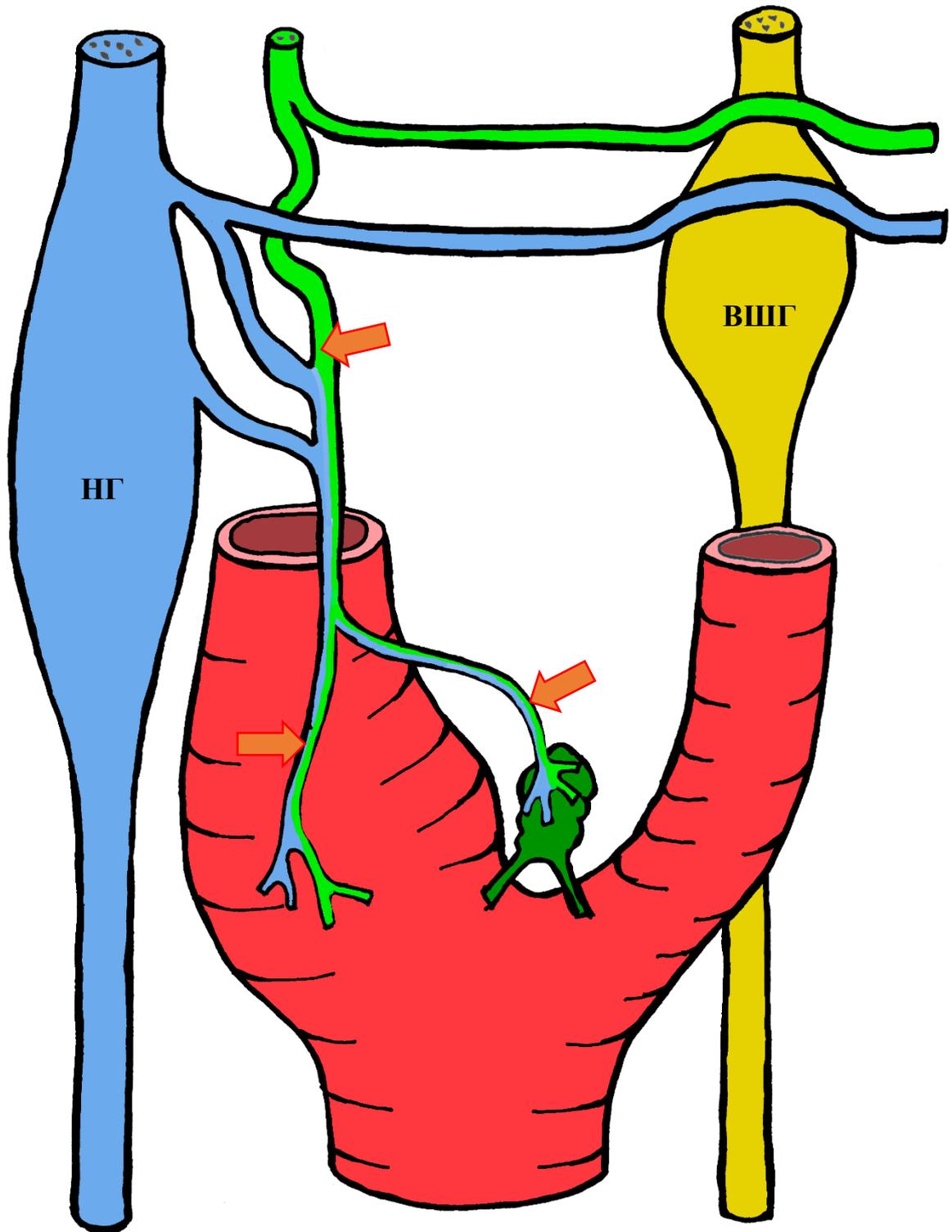


Рис. 10. Ход нервных волокон, иннервирующих каротидный клубочек, по Тоогор [43]. Блуждающий нерв и его ветви обозначены синим, языкоглоточный нерв и его ветви – зелёным, симпатические нервные волокна – жёлтым, НГ – нижний ганглий блуждающего нерва, ВШГ – верхний шейный ганглий, стрелка – синусный нерв и его ветви

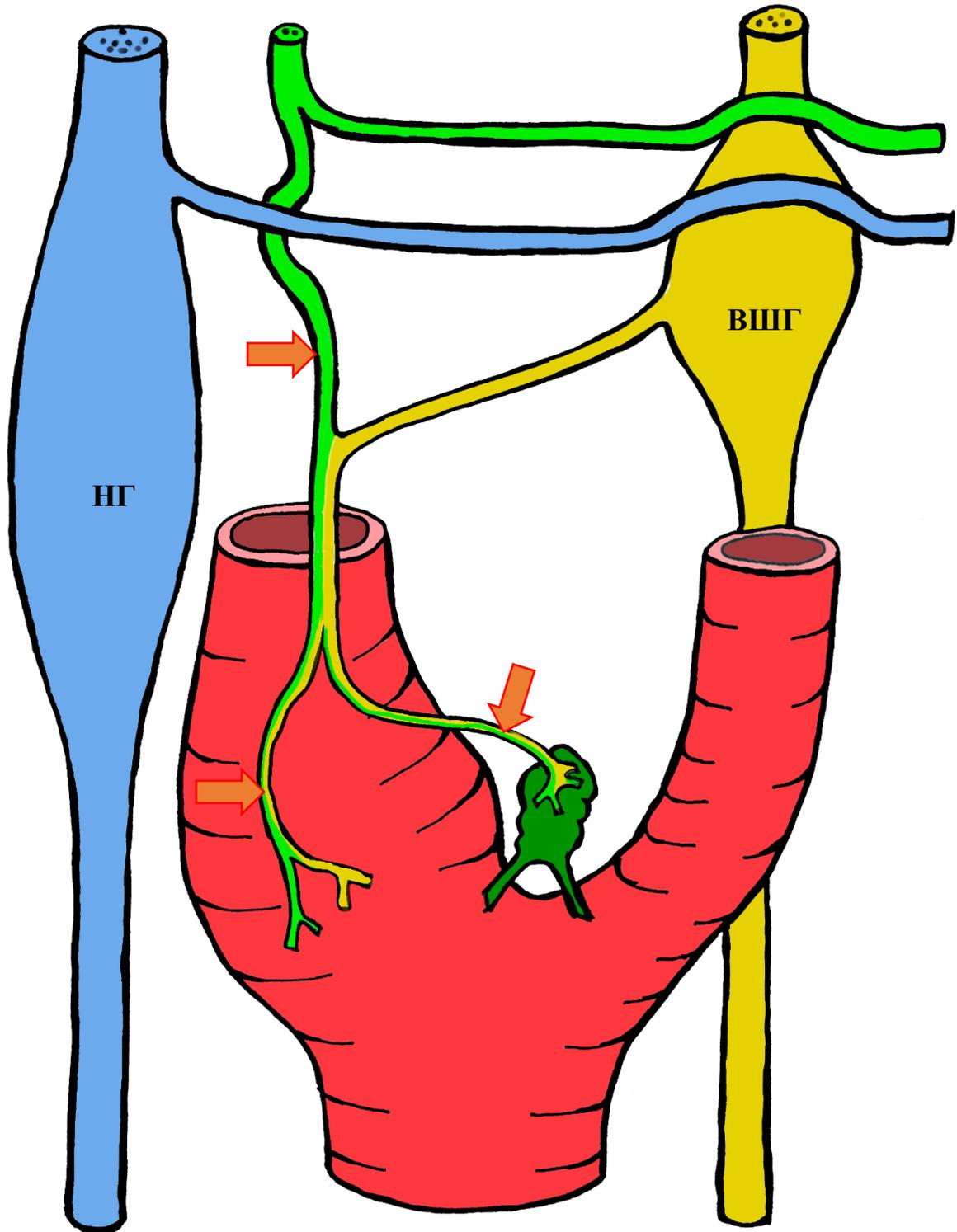


Рис. 11. Ход нервных волокон, иннервирующих каротидный клубочек, по Тоогор [43]. Блуждающий нерв и его ветви обозначены синим, языкоглоточный нерв и его ветви – зелёным, симпатические нервные волокна – жёлтым, НГ – нижний ганглий блуждающего нерва, VШГ – верхний шейный ганглий, стрелка – синусный нерв и его ветви

### **1.3. Гистологическая организация**

#### **1.3.1. Световая микроскопия**

Каротидный клубочек человека ограничен слабовыраженной капсулой, имеющей тесную связь с окружающей его соединительной тканью [54,70]. Некоторые авторы предпочитают не выделять у органа отдельную капсулу [85]. Связано это с тем, что соединительная ткань, окружающая орган, имеет тенденцию к разрастанию при старении человека. Это мешает определить точно, где располагается сама капсула, а где она переходит в окружающую соединительную ткань.

От капсулы внутрь органа внедряются соединительнотканые тяжи, в которых проходят артерии, вены и нервные волокна. Соединительнотканые тяжи разделяют орган на дольки [85]. Последние имеют круглую или овальную форму и диаметр до 565 мкм [71]. Из соединительнотканых тяжей в дольки входят сосуды и нервные окончания [85].

Гистоархитектоника органа изменяется с возрастом. Если каротидный клубочек эмбрионов и плодов содержит минимальное количество соединительной ткани [47], то по мере взросления её количество увеличивается [85]. Дольки у лиц пожилого возраста разделяются уже большими прослойками соединительной ткани, при этом наблюдается атрофия одних долек с компенсаторной гипертрофией других [85].

Каждая долька состоит из клеток, тесно прилежащих к капиллярам. Клетки представлены двумя типами – главными клетками, или клетками I типа, и поддерживающими клетками, или клетками II типа [19,85]. Клетки I типа – главный компонент паренхимы каротидного клубочка. Они имеют полигональную форму, светлую пенистую цитоплазму и округлые ядра с 2-3 ядрышками [19,21,67]. Они окружены клетками II типа [19,21,67]. Последние имеют вытянутую веретенообразную форму, их ядро, по сравнению с клетками I типа, содержит более конденсированный хроматин [19,85]. Своими отростками поддерживающие клетки окружают сгруппированные по 3-6 и более клеток I типа [54].

Группа из нескольких клеток I типа, окружённая клетками II типа, представляет функциональную единицу органа, которая называется гломерулой [54]. Между гломерулами проходят многочисленные нервные волокна, входящие из междолевой стромы. Нервные волокна тесно прилежат к клеткам I типа [21,67,68].

В каротидном клубочке человека ряд исследователей среди клеток I типа по светооптическим характеристикам выделяет три субтипа клеток: светлые, тёмные, пикнотичные [9,19,71]. Причём пикнотические клетки некоторые авторы называют также прогениторными и предполагают, что за их счёт идёт рост и регенерация органа [8,85]. Это деление основывается на размерах ядра и тела клеток, а также особенностях восприятия ими красителей.

Однако данные субтипы клеток на светооптическом уровне были выявлены лишь у человека [86]. В связи с этим возник закономерный вопрос, а не являются ли данные морфологические различия лишь артефактом препаратов? И хотя ещё самые ранние работы, посвящённые гистологии каротидного клубочка, сообщали о довольно быстрой потере клетками свои тинкториальных свойств [21], идея о том, что три субтипа клеток на самом деле являются артефактами, получила своё закономерное развитие в работах Pallot и Seker [86,87]. Однако несмотря на правильный взгляд на природу субтипов клеток I типа, работы авторов были проигнорированы.

Одни исследователи объясняли это тем, что электронно-микроскопические исследования показали реальное наличие двух субтипов клеток как у животных, так и у человека [85]. Другие, изучая гистологические особенности каротидных клубочков больных различными заболеваниями лёгких и сердца [19,71], а также младенцев [8], умерших от синдрома внезапной детской смерти, установили чёткую корреляцию между наличием или отсутствием заболевания и изменением соотношения тёмных и светлых клеток.

Таким образом, взгляды Pallot и Seker были отвергнуты, но логического объяснения данная проблема не получила. Более того, до сих пор не было представлено доказательств, что обнаруживаемые светооптические различия

субтипов клеток действительно соотносятся с их ультраструктурными особенностями.

Помимо этих типов клеток, в каротидном клубочке вне долек также обнаруживаются ганглионарные нейроны, тучные клетки и фибробласты [18,85]. Причём исследования на животных показали, что ганглионарные нейроны распределяются неравномерно по органу. Большая часть из них располагается в месте впадения в орган синусного нерва у роstralного полюса, меньшая часть – медиально, в месте впадения симпатического нерва, идущего от верхнего шейного ганглия [43].

### *1.3.2. Иммуногистохимия*

Клетки I типа синтезируют целый ряд нейрональных маркёров. Среди них ключевыми являются маркёр цитоскелета  $\beta$ III-тубулин [36,38,39], PGP9.5 [88,89] и синаптофизин [89]. Часть этих клеток осуществляет синтез декарбоксилазы ароматических аминокислот, дофамин-бета-гидроксилазы [41], гистидиндекарбоксилазы [35] и тирозингидроксилазы (ТН) [35,36,38], причём процент ТН-позитивных клеток у человека значительно ниже, чем у крыс и мышей [35,36].

Помимо этого, на данных клетках обнаружен целый ряд рецепторов: дофаминовые D2 [35,36], N1 и N3-рецепторы к гистамину [35], пуринорецепторы (A2A и P2X2) [36,39], ГАМК-рецепторы [36] и никотиновые ацетилхолиновые рецепторы [36,39]. Присутствуют также двупоровые калиевые (TASK-1) и кальций-зависимые ВК-каналы [36,39].

Клетки II синтезируют белки, характерные для глиальной популяции клеток. Среди них глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), виментин, нестин [36,38] и S100 [40].

Помимо самих гломусных клеток в органе обнаруживается большое количество нервных волокон, экспрессирующих тирозингидроксилазу, декарбоксилазу ароматических аминокислот, дофамин-бета-гидроксилазу, субстанцию P, кальцитонин-ген-связанный пептид (CGRP) и нейрофиламенты 160 кДа [41,90].

Одни волокна являются ветвями языкоглоточного нерва, другие имеют симпатическое происхождения из верхнего шейного ганглия. Причём, согласно Kummer и Nabesck, имеются значительные иммуногистохимические отличия между нервами, окружающими дольки и не заходящими в них, и нервами, входящими в сами дольки и образующими синаптические контакты с гломусными клетками [41,90].

Так, оказалось, оба типа нервных волокон иммунопозитивны на тирозингидроксилазу, однако лишь входящие внутрь долек имеют позитивную реакцию на нейрофиламенты 160 кДа. Последние, в свою очередь, не показывают реакции с декарбоксилазой ароматических аминокислот и дофамин-бета-гидроксилазой. Эти ферменты обнаружались лишь в нервных волокнах, остающихся в интерстиции органа и не заходящих в дольки [41].

Нервные волокна, содержащие субстанцию P и CGRP, обнаружены как в дольках, так и в окружающей их соединительной ткани. Они оказались иммунонегативны на тирозингидроксилазу [90].

### ***1.3.3. Электронная микроскопия***

Большинство электронно-микроскопических исследований были проведены на лабораторных животных, однако немногочисленные работы, выполненные на каротидном клубочке человека, свидетельствуют о том, что основные ультраструктурные особенности органа человека и животных схожи.

#### ***1.3.3.1. Клетки I типа***

Клетки I типа имеют довольно сложную морфологию. Хотя на первый взгляд они имеют овальную или полигональную форму, при более тщательном исследовании обнаруживаются отростки, которые могут отходить от тела на расстояние до трёх диаметров клетки. Иногда в цитоплазме отростков обнаруживаются микротрубочки диаметром 200 Å, в то же время какие-либо органеллы или секреторные гранулы относительно редки [20].

Ядра у клеток I типа относительно большие, круглые, содержат ядрышки. При электронно-микроскопическом исследовании в глаза сразу бросается характерная черта клеток I типа – наличие электронно-плотных секреторных

гранул в цитоплазме [20]. У человека они имеют средний диаметр 130 нм, хотя встречаются варианты от 100 до 200 нм [20]. Диаметр этих гранул варьирует у разных видов животных, так, к примеру, у кошек он составляет 50-150 нм [25,91], у крыс – 50-170 нм [43]. Некоторые авторы отмечают более широкий разброс диаметра гранул – от 35 до 190 нм [23].

Комплекс Гольджи значительно развит, на некоторых срезах обнаруживается отпочковывание гранул от цистерн комплекса. Отмечается развитый эндоплазматический ретикулум, который иногда образует хорошо заметные параллельные ламеллы, сходные с ламеллами вещества Ниссля [20].

В клетках I типа обнаруживается большое количество митохондрий, их ширина варьируется от 0,2 до 0,35 мкм, а длина – до 1,3 мкм. Часто встречаются митохондрии ветвящейся формы [23].

В цитоплазме некоторых клеток отмечаются нерегулярные электронно-плотные включения диаметром от 0,5 до 1 мкм. Вероятно, некоторые из этих включений – однородные и плохо отграниченные от окружающей цитоплазмы – представляют собой производные липидов. Другие, состоящие из плотных комочков и пластинок, хорошо отграниченные от окружающей цитоплазмы, являются производными липофусцина [20]. Между клетками I типа отмечаются адгезивные контакты [23] и синапсы [43,92].

Таким образом, учитывая морфологию клеток – наличие электронно-плотных секреторных гранул, развитого эндоплазматического ретикулума и комплекса Гольджи, – можно сделать вывод об их секреторном характере.

По данным электронно-микроскопических исследований, среди общей популяции клеток I типа каротидного клубочка человека и животных исследователи выделили два субтипа клеток – тёмные и светлые. Хотя и здесь не обошлось без противоречий.

По оценке Grimley и Glenner, на каждую дольку каротидного клубочка человека приходится от 5 до 20% тёмных клеток [20]. Согласно этим исследователям, цитоплазма данных клеток более электронно-плотная, содержит

больше свободных или связанных с ЭПР рибосом и секреторных гранул на единицу площади по сравнению со светлым субтипом.

Однако некоторые авторы заявили о ненадёжности оценки плотности цитоплазмы, так как здесь велика роль различного рода артефактов [43]. Кроме того, Abbott с соавторами установил, что у кошки тёмные клетки содержат гораздо меньше секреторных гранул, чем светлые [27]. То есть их наблюдения полностью противоречат данным Grimley и Glenner [20].

В связи с этим McDonald и Mitchell отказались от деления клеток на светлые и тёмные, основываясь на критериях плотности цитоплазмы. В своей работе на каротидных клубочках крысы они разделили клетки в соответствии с диаметром секреторных гранул на тип А и тип В [43].

И хотя до настоящего времени так и не было разработано чётких критериев, по которым было бы возможным разделение субтипов клеток I типа, большинство исследователей признало данное деление [54,85]. Более того, обнаруживаемые при помощи электронной микроскопии тёмные и светлые клетки зачастую отождествляются с тёмными и светлыми клетками, выявляемые светооптическим методом [85].

Однако, на наш взгляд, это подразделение клеток на субтипы не обосновано. Так как, во-первых, неизбежные при изготовлении препаратов артефакты не позволяют с уверенностью констатировать, что наблюдаемые различия между клетками действительно являются физиологическими.

Во-вторых, между работами исследователей, занимавшихся изучением морфологических особенностей каротидного клубочка, существуют значительные противоречия, полностью исключаящие друг друга.

В-третьих, на наш взгляд, не обосновано само отождествление ультраструктурных особенностей клеток с их светооптическими характеристиками. Так, к примеру, McDonald и Mitchell заявляют о существовании двух типов клеток в каротидном клубочке крыс [43], выявляемых электронной микроскопией, однако, как известно, на светооптическом уровне популяция клеток I типа у данного вида животных однородна [86]. Более того, на световой

микроскопии тёмные клетки обнаруживаются только у человека [86], в то время как по ультраструктурным особенностям тёмный и светлый субтипы клеток исследователи выделяют у целого ряда других видов животных помимо человека [27,43,93].

#### *1.3.3.2. Клетки II типа*

Клетки II типа имеют длинные отростки, значительно превышающие по длине размеры тела самой клетки. По мере удаления от тела отростки сужаются, но не ветвятся. В местах соприкосновения отростков клеток II типа между собой обнаруживаются контакты на подобие десмосом [20]. Своими отростками клетки II типа окружают как нервные окончания, так и клетки I типа [20]. Однако клетки II типа не полностью окружают клетки I типа, иногда оставляя зазоры, в которых клетки I типа могут напрямую контактировать с базальной мембраной капилляра [23].

Ядра клеток II типа имеют более гомогенное распределение хроматина по сравнению с клетками I типа. В зависимости от плоскости прохождения среза их ядра имеют овальную, бобовидную либо треугольную форму. Цитоплазма содержит незначительно количество простых или ветвящихся трубочек шероховатого ЭПР, гладкий ЭПР более выражен. Также в цитоплазме встречается незначительное количество митохондрий [20,23].

#### *1.3.3.3. Ганглионарные нейроны*

Вне долек обнаруживаются ганглионарные нейроны [23,94]. Их тела покрыты сателлитной глией. Они имеют большое и овальное ядро с хорошо заметным ядрышком, а также большое количество ядерных пор. В их цитоплазме обнаруживаются митохондрии, хорошо развитый комплекс Гольджи. Цистерны гранулярного ЭПР образуют параллельные ламеллы вещества Ниссля. На поверхности этих клеток обнаруживается большое количество аксо-дендритических и аксо-соматических синапсов [94].

Результаты экспериментов с перерезкой нервов показывают, что в каротидном клубочке имеется два типа ганглионарных нейронов: парасимпатические и симпатические, причём первых намного больше, чем вторых

[43]. Согласно данным McDonald и Mitchell, тела нейронов, иннервирующих парасимпатические нейроны органа, располагаются в стволе головного мозга, а ход их аксонов пролегает по языкоглоточному нерву. Симпатические ганглионарные нейроны получают свою иннервацию от нейронов верхнего шейного ганглия [43].

#### *1.3.3.4. Внутридольковые нервные окончания*

Каротидный клубочек обладает развитой иннервацией, получаемой от синусного нерва и верхнего шейного ганглия. Однако в связи со сложной архитектоникой органа и наличием многочисленных отростков клеток I и II типов нервные волокна не так просто дифференцировать от окружающих клеточных элементов. Однако их можно отличить по регулярно расположенным микротрубочкам диаметром 180-200 Å и нейрофиламентам [20].

Нервные волокна покрыты шванновскими клетками [20], однако количество миелинизированных волокон незначительное, преобладают немиелинизированные С-волокна [23]. Входя в дольку органа, они теряют свою оболочку из шванновских клеток и продолжают свой ход уже окружённые клетками II типа [20]. Аксоны отделены от клеток I типа клетками II типа и контактируют лишь в местах синаптических контактов [20], где они образуют расширения диаметром от 0,5 до 2 мкм [23]. В местах контакта нервного окончания и клетки I типа обнаруживаются синаптические утолщения мембран [20].

Обычно клетка I типа имеет контакт с одним нервным окончанием, хотя встречаются варианты контактов с двумя и тремя окончаниями [23]. Кроме того, после серийного реконструирования ультраструктуры органа Kondo установил, что одно нервное волокно может иннервировать сразу несколько клеток I типа [95].

Согласно данным Grimley и Glenner, большинство нервных расширений в каротидном клубочке человека содержат большое количество синаптических везикул диаметром от 300 до 400 Å и множество мелких митохондрий. Некоторые везикулы содержат электронно-плотные гранулы [20].

Сходные результаты получили Biscoe и Stehbens в своей работе на кроликах и кошках [23]. Помимо этого, Nishi в каротидном клубочке кошек выделил два типа

нервных окончаний на клетках I типа в зависимости от их формы и размеров: большие чашечковидные окончания и малые чашечковидные окончания [96].

Большие чашечковидные окончания покрывают около 40% поверхности клеток I типа. Эти окончания сходны с окончаниями, описанными предыдущими авторами, однако содержат меньше митохондрий. Интересной их особенностью являются пальцевидные отростки, внедряющиеся в тело клеток I типа. Однако никаких синаптических контактов между этими отростками и самими клетками не наблюдается [96].

Малые чашечковидные окончания в отличие от предыдущих имеют меньшие размеры, а также содержат меньше электронно-плотных гранул. Интересно, что этот тип окончаний имеет тенденцию к установлению контактов больше, чем с одной клеткой I типа [96].

McDonald и Mitchell в дополнение к предыдущим типам также выделили бутоноподобные нервные окончания. Кроме того, методом перерезки нервов они установили, что нервные окончания, берущие начало от верхнего шейного ганглия, имеют бутоноподобную форму, а нервные окончания, берущие начало от синусного нерва, имеют как бутоноподобную, так и чашечковидную формы [43].

Вышеперечисленные характеристики нервных окончаний дали основания Grimley и Glenner полагать, что данные нервные расширения представляют собой симпатические эфферентные окончания. По их данным, лишь некоторые расширения, не содержащие большое количество митохондрий и синаптических пузырьков, вероятно, являются афферентными [20].

Схожее мнение высказал Viscose, однако добавил, что большинство нервных окончаний на клетках I типа являются скорее двигательными, чем чувствительными [16]. Подобные результаты получил Abbott, заявивший, что везикулы, которые присутствовали внутри цитоплазмы клеток I типа, лишь иногда располагались рядом с синапсами, что может быть случайностью [27].

Herjonen, исследуя каротидные клубочки плодов человека, также согласился с трактовкой Viscose об эфферентном характере синапсов, отметив, что синаптические везикулы наблюдались именно в нервных окончаниях [47].

Kobayashi, изучив более подробно ультраструктуру синаптических контактов, установил, что чаще всего синаптические везикулы обнаруживаются лишь со стороны нервного окончания, а значит синапсы по морфологическим критериям должны быть эфферентными [94]. Аналогичные результаты об эфферентном характере синапсов получил King на материале каротидных клубочков птиц [24].

Не все исследователи согласились с подобной трактовкой. Morgan заявил, что по его данным в каротидном клубочке крысы чаще обнаруживаются именно афферентные синапсы, при этом он также учитывал расположение синаптических везикул и особенности клеточных мембран, образующих синапс [92]. Kondo на основании тех же критериев по результатам исследования серийных срезов установил, что афферентные синапсы на клетках I типа встречались в 20 раз чаще [95].

Однако в работе McDonald и Mitchell такой значительной разницы не обнаружилось. Авторы провели тщательное исследование, применив также метод перерезки нервных волокон [43]. Нервные окончания, происходящие от языкоглоточного нерва, они назвали афферентными, а окончания, происходящими от верхнего шейного ганглия, – эфферентными.

Афферентных нервных окончаний оказалось приблизительно 95%, эфферентных – 5%. Но при изучении синапсов выяснилось, что 20% афферентных нервных окончаний образуют эфферентные синапсы на телах клеток I типа, а 30% – афферентные синапсы. 5% афферентных нервных окончаний имело афферентные синапсы на отростках клеток I типа, ещё 5% имели реципрокные синапсы с данным типом клеток. Около 40% нервных окончаний вообще не имело синапсов с клетками I типа. Все исследованные эфферентные нервные окончания имели лишь эфферентные синапсы с клетками I типа [43].

Таким образом, в литературе между различными авторами практически нет расхождений по ультраструктуре нервных окончаний. Все они обнаруживают в них большое количество митохондрий и везикул. Однако основные противоречия возникли при изучении ультраструктуры самих синапсов. Это, в свою очередь,

может объясняться артефактами, возникающими при различных методиках изготовления препаратов, так как они значительно затрудняют интерпретацию полученных данных.

Так, по мнению Kobayashi, те немногие везикулы, обнаруживаемые исследователями со стороны мембраны клеток I типа, с высокой долей вероятности можно отнести к артефактам приготовления препарата [94]. О большом влиянии методов фиксации на морфологическую картину напоминал также Viscio [16].

И хотя противоречивые данные о характере синапсов так и не получили удовлетворительного объяснения, большинство авторов приняло гипотезу о чувствительном характере большинства нервных окончаний на клетках I типа [54,62,85]. Самую большую роль в этом сыграли результаты экспериментов с перерезкой нервных волокон, свидетельствующие об отсутствии дегенерации нервных окончаний на клетках I типа.

Ещё одной особенностью каротидного клубочка помимо вышеперечисленных нервных окончаний, образующих синапсы на клетках I типа, стал отдельный тип окончаний, слепо заканчивающихся внутри отростков клеток II типа [96]. Эти нервные окончания происходят от немиелинизированных нервных волокон диаметром от 0,3 до 3 мкм. Они полностью покрыты клетками II типа и имеют большое количество плеоморфных везикул диаметром 1000-2000 Å. Также в них обнаруживается небольшое количество мелких митохондрий и пластинчатых телец. Между этими окончаниями и окружающими их клетками II типа не найдено никаких синаптических контактов. Какую функцию выполняет этот тип окончаний до сих пор неясно [96].

#### *1.3.3.5. Строма и сосуды*

Орган имеет обильное кровоснабжение. Капилляры имеют достаточно крупный просвет, зачастую превышая 7 мкм в диаметре [23]. Эндотелиальные клетки, выстилающие капилляры имеют фенестры диаметром 400-700 Å, что характерно для эндокринных органов [20]. Они лежат на непрерывной базальной мембране, в её расщеплении располагаются перициты, имеющие реснички и отростки. Кнаружи следует интерстициальное пространство, содержащее волокна

коллагена и фибробласты. Более крупные сосуды имеют мышечную оболочку. Часто вне долек, в интерстиция вблизи сосудов, располагаются тучные клетки [20].

Таким образом, между просветом капилляра и клеткой I типа стоит барьер из эндотелиальных клеток, базальной мембраны с перицитами, стромы с коллагеном и клеток II типа.

#### *1.3.3.6. Нервные окончания стромы и сосудов*

В строме между дольками также обнаруживается большое количество нервных волокон [20,23,41,43,90,96]. Одной из интересных особенностей этих волокон являются нервные окончания, непосредственно контактирующие с базальной мембраной капилляров [23]. На всём своём протяжении образующие их нервные волокна окружены шванновскими клетками, однако в некоторых местах шванновская оболочка пропадает, и нервное окончание напрямую прилежит к базальной мембране. Эти нервные окончания также содержат везикулы диаметром около 500 Å, а также митохондрии и везикулы диаметром 650-1000 Å с электронно-плотными ядрами [23].

После экспериментов с перерезкой нервов было выяснено, что основная масса немиелинизированных нервных волокон, располагающихся вдоль сосудов, отходит от верхнего шейного ганглия [42]. Более того, как оказалось, несмотря на то что данные нервные волокна являются постганглионарными, они содержали в себе большое количество ацетилхолинэстеразы и бутирилхолинэстеразы [97]. Это значит, что они могут использовать ацетилхолин в качестве нейромедиатора. McDonald и Mitchell, перерезая в одном случае только синусный нерв, в другом – все нервы, подходящие к органу, они выяснили, что часть нервных волокон сохраняется [43]. Таким образом, вероятно, данные волокна могут быть аксонами парасимпатических ганглионарных клеток, присутствующих в клубочке.

### **1.4. Морфофункциональные теории работы каротидного клубочка**

Ещё ранние исследователи каротидного клубочка отмечали, что в нём обнаруживается обильная иннервация. Однако природа органа оставалась загадкой. Из-за огромного количества нервных волокон первые исследователи считали его непосредственной частью нервной системы, что отразилось в

первоначальных вариантах названия органа, в каждом из которых фигурировало слово «ганглий» [54,98].

Но уже со времён работы Luschka, вышедшей в 1862 году [99], среди учёных получает распространение мнение о секреторном характере каротидного клубочка [54]. Работы Kohn ещё больше укрепили эту гипотезу [57]. В своём фундаментальном труде о параганглиях Kohn приходит к выводу, что каротидный клубочек один из хромаффинных параганглиев, чьей функцией является синтез катехоламинов [57]. Он показал тесную связь органа с верхним шейным ганглием и предположил его единство с симпато-адреналовой системой.

Однако не всем учёным удавалось обнаружить катехоламины в каротидном клубочке. Кроме того, эндокринный характер органа предполагает наличие обильной эфферентной иннервации. Однако в начале XX века Fernando de Castro, применяя методы перерезки нервных волокон, доказал афферентный характер иннервации каротидного клубочка [13].

В дополнение к этому он показал, что основным источником иннервации органа являются волокна языкоглоточного нерва, а не симпатического верхнего шейного ганглия [13]. Также он не смог обнаружить достаточного количества катехоламинов в органе. Таким образом, работы de Castro, подтверждённые и другими специалистами, оказались сильным ударом для теории Kohn об эндокринной функции каротидного клубочка [17,54]. Одновременно с этим работы Neumans по изучению хеморецепторных зон прочно закрепили за каротидным клубочком статус хемочувствительного органа [17,54].

Чтобы разрешить накопившиеся противоречия, Watzka предложил разделить параганглии на две группы: хромаффинные, или симпатические, и нехромаффинные, или парасимпатические [100]. Симпатические параганглии по его теории являются эндокринными органами, синтезирующие катехоламины. Парасимпатические параганглии, к которым помимо каротидного клубочка теперь отнесены аортальные тельца и ряд других параганглиев головы и шеи, являются хемочувствительными органами, отвечающими за рецепцию парциального давления газов крови.

Появление электронной микроскопии и более тонких биохимических методик углубили наши знания об органе. Оказалось, что наблюдения de Castro не совсем соответствуют действительности. Как было выяснено позднее, все клетки I типа содержат катехоламины, но у некоторых животных, на которых как раз и ставил свои опыты de Castro, катехоламины представлены лишь в низких концентрациях, которые не могли быть обнаружены прежними методиками [17]. Несмотря на это, мнение о чувствительном характере органа сохранилось. Но оставался вопрос о том, какой элемент органа ответственен за хеморецепцию [16].

С того времени было выдвинуто три теории, объясняющие механизмы хеморецепции в органе. Согласно первой, наиболее популярной теории, первичным чувствительным элементом являются клетки I типа [36,62]. В противовес ей британский гистолог Tim Viscioe предположил, что роль сенсора парциального давления газов крови выполняют свободные нервные окончания [16]. Третья теория отводила эту роль клеткам II типа [16].

После изучения физиологии и ультраструктурных характеристик этих элементов третья теория была опровергнута, так как клетки II типа не синтезируют нейромедиаторы, не формируют никакого потенциала действия на своей клеточной мембране, а между ними и другими элементами органа нет синаптических связей [16,62].

Таким образом, долгое время велась борьба между сторонниками первой и второй теории. Основные аргументы в пользу первой заключаются в следующем:

1. Отсутствие дегенерации нервных окончаний на клетках I типа при перерезке языкоглоточного нерва интракраниально (краниальной ганглии) свидетельствует об афферентной роли этих нервных волокон [13,101].
2. Катехоламины, содержащиеся в гранулах клеток I типа, рассматриваются в качестве медиатора [54].
3. Способность клеток первого типа менять заряд на своей мембране в ответ на изменение парциального давления кислорода и углекислого газа [102].

4. Высвобождение клетками I типа катехоламинов в ответ на гипоксию [103].
5. У жителей высокогорья, больных сердечно-сосудистыми заболеваниями и заболеваниями лёгких отмечается увеличение каротидного клубочка за счёт пролиферации клеток I типа [19].
6. После реиннервации органа другим нервом, не содержащим хеморецепторов, возобновлялась импульсация в ответ на гипоксию [48].

Однако оппонент этой теории Viscosе с коллегами заново поставил эксперименты с интракраниальной перерезкой нервных волокон. Особенностью их работы стало длительное наблюдение за дегенерацией нервных окончаний. Животные после интракраниальной перерезки умерщвлялись в промежутке от 1,5 до 378 дней после операции. При этом оказалось, что на 44 день после операции статистически значимо снижается количество нервных окончаний на клетках I типа. Кроме того, имеющиеся окончания имеют признаки нейродегенерации [26].

Авторы отметили, что при этом не наблюдалось никакого изменения в электрофизиологической активности синусного нерва. Это означало, что клетки I типа не могут являться первичным хемочувствительным элементом, а нервные окончания на этих клетках являются эфферентными. Viscosе предположил, что роль хемосенсора выполняют свободные нервные окончания, расположенные в строме органа вокруг сосудов [16]. Стоит отметить, что хемосенсорную роль также может выполнять часть нервных окончаний, которые доходят до долек органа, погружаются в тело клеток II типа и слепо в них заканчиваются, не образуя синапсы ни с ними, ни с клетками I типа [96].

Однако повторные эксперименты по перерезке языкоглоточного нерва показали, что описанной Viscosе дегенерации не происходит. Такое противоречие в результатах объясняется, скорее всего, тем, что при перерезке корешков языкоглоточного нерва шло механическое повреждение чувствительного ганглия. Кроме того, у кошек, на которых работал Viscosе, языкоглоточный нерв имеет

ганглионарное расширение до его вхождения в яремное отверстие, что способствует травматизации [96].

Таким образом, полученные Viscos результаты объясняются повреждением чувствительного ганглия, находящегося между костями черепа и стволом мозга. В этом свете становится понятным и сохранение электрических потенциалов синусного нерва. Так как они обеспечиваются сохранными нервными клетками ганглия, находящегося в канале кости. Именно поэтому Viscos наблюдал лишь уменьшение количества синапсов на гломусных клетках, но не полное их исчезновение.

После того как теория Viscos была опровергнута, обсуждение механизмов хеморецепции в каротидном клубочке шло лишь в парадигме первой теории. Велось изолированное изучение клеток клубочка физиологическими и молекулярно-биологическими методами, но любые эмпирические данные, полученные экспериментаторами, рассматривались в узких рамках хемочувствительной роли клеток I типа.

Однако здесь обнаружилось множество противоречий и интересных подробностей. Pallot и Viscos исследовали мышей с мутацией «wobbler». Данная мутация приводит к дегенерации моторных нейронов с последующей денервацией мышечных клеток, однако при этом не затрагивается чувствительная иннервация кожи, слизистых, телец Фатера-Пачини и т.д. В результате проведённого исследования авторы выяснили, что хеморецепторный ответ каротидного клубочка на изменение парциального давления газов в крови у мутантных мышей не отличается от здоровых. Однако при ультраструктурном исследовании оказалось, что количество нормальных нервных окончаний на 100 клеток I типа у мутантов составляло от 0 до 7. В то время как в контроле авторы насчитали 130-170 нормальных окончаний. Авторы предположили, что это может быть связано либо с избыточностью иннервации, либо с тем, что для хемочувствительности нервным волокнам не требуются синаптические контакты с клетками I типа [104].

Euzaguirre, Baron и Gallego установили, что растворённый азот увеличивает импульсацию синусного нерва, однако не влияет на мембранный потенциал клеток

I типа. Аналогично действовали ацетилхолин и углекислый газ. Однако при воздействии углекислого газа одновременно с уменьшением pH среды до 6 авторы отметили деполяризацию клеток [30]. В свою очередь Asker и Pietruschka, исследуя культуры клеток каротидного клубочка, выяснили, что при уменьшении парциального давления кислорода мембранный потенциал клеток I типа увеличивается. Таким образом, было предположено, что клетки I типа являются первичным сенсором парциального давления кислорода [105].

Дальнейшие исследования показали, что клетки каротидного клубочка содержат большое количество дофамина и незначительное количество норадреналина, при этом гипоксия уменьшает количество дофамина. Кроме того сокращение дофамина при гипоксии уменьшается при перерезке синусного нерва [44]. Hanbauer выяснил, что при гипоксии увеличивается синтез тирозингидроксилазы в клетках I типа [45].

Hellström подтвердил уменьшение количества дофамина в клетках каротидного клубочка. Однако, как оказалось, дофамин ингибирует импульсацию синусного нерва [44]. Уменьшение импульсации синусного нерва под действием дофамина подтвердил также Nishi. Более того, он выяснил, что агонисты дофаминовых рецепторов, например, апоморфин, также снижают импульсацию [46]. Однако Zapata отметил, что повторное введение дофамина дробными интервалами, наоборот, может увеличивать импульсацию [106]. При этом оказалось, что норадреналин не влияет на работу нервных волокон синусного нерва [107].

Таким образом, было выяснено, что гипоксия вызывает и выброс дофамина клетками I типа, и увеличение импульсации синусного нерва. Однако при этом дофамин, наоборот, тормозит импульсацию по крайней мере в самом начале. Чтобы объяснить это противоречие, исследователи предположили, что медиатором, ответственным за передачу импульса с клеток I на синусный нерв, является ацетилхолин. И, как было уже упомянуто, ацетилхолин действительно вызывает увеличение импульсации синусного нерва [30].

Christie сообщил, что опухоли каротидного клубочка могут вызывать гипотензию у декапитированных животных. Однако этот эффект не блокировался атропином, что поставило под сомнение предположение, что он вызван ацетилхолином [108]. Кроме того, как известно, опухолевая ткань может синтезировать вещества, которые не обязательно синтезируются тканью в норме.

Fidone с соавторами методом газовой хроматографии и масс-спектрометрии показал, что при перерезке синусного нерва в ткани органа увеличивается количество ацетилхолина [109]. Однако, данные Виссое говорят о том, что большие количества ацетилхолина могут присутствовать в постганглионарных волокнах, идущих в орган от верхнего шейного ганглия [97]. Поэтому Fidone методом автордиографии определил, что в полностью денервированном каротидном клубочке отмечается накопление холина в клетках I типа, что может свидетельствовать о синтезе в них ацетилхолина [109].

Учёными было проведено множество исследований, направленных на изучение влияния различных агонистов и антагонистов холинорецепторов. Было выяснено, что агонисты усиливают импульсацию синусного нерва, которая снимается антагонистами [29,110–112]. Однако Douglas в эксперименте на кошках убедительно показал, что несмотря на то, что антагонист холинорецепторов гексаметоний снижал импульсацию синусного нерва в ответ на лобелин, никотин и на ацетилхолин, он, даже в большой дозе, не влиял на реакцию нерва в ответ на гипоксию [113].

Euzaguirre и Коуано повторили исследование, но уже на изолированном каротидном клубочке. В ряде работ они показали, что большие дозы различных холиноблокаторов всё-таки снижают ответ синусного нерва и на гипоксию, но не блокируют полностью [28,29,114]. Также следует отметить, что несмотря на снижение импульсации, реакция нерва на гипоксию сохранялась в большей степени, чем на ацетилхолин. Помимо этого, необходимо учитывать, что при такой большой дозе блокирующего агента существует высокая вероятность блокировки проведения импульса по нервному волокну, что приведёт к подобному результату [16].

Долгое время исследователи не могли показать точно, что происходит с выбросом ацетилхолина под действием гипоксии. Учёные были вынуждены ориентироваться на различные косвенные методы, результаты которых могли быть подвержены влиянию других медиаторов, выделяемых клетками каротидного клубочка помимо ацетилхолина.

Показать это напрямую удалось лишь в 2004 году Kim с соавторами. Результаты оказались неожиданными. В ответ на гипоксию клетки I типа не увеличивали, а наоборот снижали выброс ацетилхолина и увеличивали выброс дофамина [115]. Однако и здесь не обошлось без противоречий. Kahlin и Fitzgerald независимо друг от друга показали, что при гипоксии отмечается увеличение выброса ацетилхолина клетками I типа [116,117].

Стоит отметить, что результаты работ всех трёх авторов не являются убедительными. Большие вопросы возникают к применяемым авторами статистическим методам оценки. К сожалению, отсутствие в статьях первичной информации об уровнях ацетилхолина не позволяет перепроверить данные более адекватными статистическими методами. Таким образом, основываясь на текстах статей Kim, Kahlin и Fitzgerald, нельзя утверждать, что они действительно наблюдали реальное уменьшение или увеличение выхода ацетилхолина из клеток.

Следующим претендентом на роль трансмиттера сигнала от клеток I типа на нервные окончания стала АТФ. Одними из первых, описавших возбуждающее действие АТФ на импульсацию синусного нерва, стали отечественные фармакологи М.Л. Беленький и С.В. Аничков [112]. Исследуя целый ряд веществ, они установили, что АТФ наряду с ацетилхолином возбуждающе действует на нервы каротидного клубочка. Однако в первое время гипотеза о передаче сигнала в синапсе молекулой АТФ не получила распространения, так как преобладало мнение о неспецифичном воздействии этой молекулы [118].

В дальнейшем целый ряд авторов подтвердил возбуждающее действие АТФ на хемореспираторный рефлекс. Fitzgerald [117] и Kahlin [116] показали, что во время гипоксии клетки I типа выбрасывают АТФ. Таким образом, гипотеза о роли

АТФ в передачи сигнала с клеток I типа на афферентные окончания синусного нерва получила широкое распространение.

Однако и здесь не обошлось без трудностей. Эксперименты по блокаде пуринорецепторов показали, что блокирующие агенты так же, как и блокаторы рецепторов ацетилхолина, если и уменьшали частоту импульсации синусного нерва в ответ на гипоксию, то не полностью [118].

Поэтому учёные предложили новую теорию, сущность которой заключалась в том, что ацетилхолин и АТФ действуют в паре как ко-трансммиттеры. Однако и здесь эксперименты по одновременному блоку ацетилхолиновых и пуриновых рецепторов показали, что даже применение адекватных доз блокаторов хоть и снижает импульсацию синусного нерва, но опять же не блокирует её полностью. Синусный нерв продолжает реагировать на гипоксию и сохраняет базальную активность [118,119].

Под конец стоит упомянуть важнейшие эксперименты, которые используются сторонниками первичности клеток I типа для подтверждения их теории.

Первый эксперимент выполнили Zapata, Hess и Eyzaguirre. Они провели перерезку языкоглоточного нерва и реиннервацию его дистальной культи верхним гортанным нервом. Этот нерв, как считалось, содержит совсем немного моторных волокон и большое количество механорецепторов и в физиологических условиях не показывает никакой хемочувствительности на гипоксию, гиперкапнию и изменение рН.

Через 4-5 месяцев учёными было отмечено возобновление импульсации от реиннервированного каротидного клубочка в ответ на гипоксию. Авторы предположили, что это может объясняться двумя способами: 1) нервные окончания верхнего гортанного нерва изменили свою специфичность и стали хемочувствительными; 2) нервные окончания не меняли своих свойств, а стимулировались веществами, выделяемыми клетками I типа [48].

Авторы отвергли первый вариант, так как, по их мнению, нервы не могут изменять свою специфичность. Они привели пример с моторными волокнами,

которые могут устанавливать связи с чувствительными органами, однако полученные нервные окончания не будут функциональными. Следовательно, их гипотеза заключается в том, что в данном случае ацетилхолин, выбрасываемый клетками I типа в ответ на гипоксию, ответственен за передачу возбуждения на нервные волокна верхнего гортанного нерва.

Однако электронно-микроскопическое исследование пробило брешь в их же гипотезе. Основываясь на результатах изучения ультраструктуры нервных окончаний, авторы выяснили, что синапсы между клетками I типа и вновь проросшими нервными окончаниями практически не обнаруживались. Нервные окончания проникали вглубь клеток II типа, однако не доходили до мембран клеток I типа. Таким образом, учёные отметили, что между предполагаемыми хемочувствительными клетками и афферентными нервными окончаниями не было образовано синапсов, а сами они были отделены друг от друга цитоплазмой клеток II типа.

Этот факт исследователи объяснили тем, что ацетилхолин, вероятно, диффузно распространяется по клубочку и доходит до нервных окончаний. Также в защиту своей гипотезы они подчеркнули, что порог возбуждения на естественные стимулы был выше, чем в случае нормального каротидного клубочка. По их мнению, если бы первично-чувствительным элементов были сами нервные окончания, то ответ должен был быть аналогичным контролю.

Однако в дальнейшем оказалось, что верхний гортанный нерв всё-таки содержал хемочувствительные волокна, реагирующие на высокое парциальное давление углекислого газа [120].

Чтобы избежать подобных затруднений в интерпретации результатов, Monti-Bloch, Stensaas и Euzaguirre провели второй эксперимент. Они осуществили трансплантацию каротидного клубочка в мышечную ткань задних конечностей кошки, которая, по их мнению, не содержала никаких хемочувствительных волокон. Результатом стало появление хемочувствительности на различные стимулы, такие как гипоксию, гипероксию и гиперкапнию. После проведённого ультраструктурного исследования они установили, что на клетках I типа были

обнаружены новообразованные синапсы. Однако приведённые микрофотографии были ненадлежащего качества и судить по ним о морфологии синапсов затруднительно [120].

Третьим экспериментом стала работа Verna, Roumy и Leitner по криодеструкции клеток каротидного клубочка. После локальной заморозки органа авторы отмечали гибель как клеток органа, так и нервов и нервных окончаний. Но через 18 дней после операции авторы отмечали регенерацию нервных стволов внутри органа. Затем они обнаружили восстановление барорецепторной активности, однако хемочувствительность значительно снижалась. Отсутствовала реакция на введение NaCN, а также на изменение парциального давления кислорода [121].

Завершающим этапом стала работа Zhong, Zhang и Nurse, выполненная на клеточных культурах нейронов каменистого ганглия и клеток I типа каротидного клубочка. Авторы выяснили, что в ответ на гипоксию меняется мембранный потенциал только клеток I типа, при этом потенциал нейронов не изменяется. Однако при совместном культивировании было отмечено образование связей между нейронами и группами клеток I типа, после чего исследователи отметили быструю деполяризацию и резкое возрастание спайковой активности контактирующих с клетками I типа нейронов [122].

Таким образом, к настоящему моменту, несмотря на целый ряд проблем и противоречий, теория о первичной роли клеток I типа стала общепринятой. С этим согласился даже её непримиримый оппонент Biscoe [123].

В рамках этой теории существовал целый ряд гипотез, объясняющих молекулярные механизмы чувствительности клеток на гипоксию, исследовались гены, отвечающие за хемочувствительность, изменение синтеза РНК и различного рода сигнальных молекул [33,34,124–128]. Итогом многочисленных исследований стало создание интегрированной модели передачи сигналов от митохондрии к мембране [102,129]. Эта модель объединяет в единую теорию многочисленные факты, полученные молекулярными биологами в результате изучения механизмов, ответственных за реакцию клеток I типа на гипоксию.

Согласно этой теории, ключевую роль в хеморецепции играет митохондриальный мембранный комплекс IV, обеспечивающий перенос электронов с цитохрома С на кислород. Во время острой гипоксии происходит замедление поступления кислорода на комплекс IV, что приводит к затруднению передачи электронов. Происходит торможение переноса электронов по всей цепи. Это вызывает возрастание концентрации восстановленной формы убихинона. Увеличенная концентрация восстановленной формы убихинона замедляет работу митохондриального мембранного комплекса I, что увеличивает концентрацию NADH и активных форм кислорода в цитоплазме клетки. Последние регулируют работу ионных каналов цитоплазматической мембраны. Изменение работы ионных каналов приводит к деполяризации мембраны клетки I типа и последующему поступлению ионов кальция внутрь, результатом чего становится выброс нейромедиаторов [129].

Однако, являясь на первый взгляд логичной и стройной теорией, модель передачи сигналов от митохондрии к мембране, имеет целый ряд недостатков. Отлично объясняя внутриклеточные механизмы хемочувствительности, она не может разрешить всех назревших к сегодняшнему дню противоречий. Наличие эфферентных синапсов на окончаниях чувствительных нервов, огромное количество различных нейромедиаторов (включая катехоламины) в цитоплазме клеток I типа, сохранение ответа синусного нерва на гипоксию даже после применения блокаторов ацетилхолиновых и пуриновых рецепторов – всё это остаётся без объяснений.

Углубляясь в молекулярную биологию без учёта морфологических данных, учёные не разрешают накопившиеся противоречия, а лишь обнаруживают всё больше и больше изменений, которые происходят в клетках каротидного клубочка. Закономерно, всё это получило своё логичное продолжение и в трактовке роли органа при различных патологических состояниях.

## **1.5. Роль каротидного клубочка в развитии и течении заболеваний и при различных патологических состояниях**

О влиянии каротидного клубочка на течение различных заболеваний начали говорить практически сразу после признания его роли в регуляции деятельности сердечно-сосудистой и дыхательной систем.

В настоящей работе мы не будем касаться заболеваний, непосредственно связанных с тканью каротидного клубочка (новообразования, аутоиммунный гломит), а ограничимся лишь системными заболеваниями, в развитие которых, как утверждают исследователи, принимает участие орган.

### ***1.5.1. Синдром внезапной детской смерти***

Рассматривая каротидный клубочек как основной периферический хеморецептор, ряд исследователей предполагает прямую связь этого органа с развитием синдрома внезапной детской смертности (СВДС).

Практически все исследователи влияния каротидного клубочка на СВДС делали акцент либо на изменении объёма и количества электронно-плотных гранул, либо на изменении соотношений светлых, тёмных и пикнотичных (прогениторных) клеток.

Naeye с коллегами установил, что умершие от СВДС дети имели относительно меньший размер каротидного клубочка по отношению ко всему телу, чем дети, умершие от других заболеваний. Однако дети, у которых помимо СВДС присутствовала сопутствующая инфекционная патология, имели каротидные клубочки большего размера, чем плоды без инфекционной патологии [51].

Cole с соавторами обнаружил, что у детей, умерших от СВДС, в цитоплазме клеток I типа содержится значительно меньше электронно-плотных гранул, а в некоторых клетках они даже отсутствуют. Сами хеморецепторные клетки отличались меньшими размерами по сравнению с контролем. Авторы предположили, что раз клетки I типа содержали меньше электронно-плотных гранул, либо гранулы вообще отсутствовали, то была нарушена синаптическая передача сигнала на нервные окончания [130].

Однако, этот вывод необоснован. Известно, что в электронно-плотных гранулах содержатся катехоламины, включая дофамин [131], который не возбуждает, а наоборот тормозит импульсацию синусного нерва. Таким образом, снижение электронно-плотных гранул в клетках не могло привести к развитию СВДС. Более того, авторы не провели никакого статистического анализа, а на представленных ими фотографиях обнаруживается огромное количество артефактов, которые могут быть связаны как с поздней фиксацией, так и с ошибками на этапе фиксации или проводки препаратов.

Perrin с соавторами повторили исследование Cole. Однако они установили, что изменения в каротидном клубочке, включая количество и размеры электронно-плотных гранул, не являются статистически достоверными [52].

Переходя к работам, посвящённым изучению органа на светооптическом уровне, нужно отметить следующее. Известные исследователи каротидного клубочка Donald Heath и Paul Smith в своих трудах отметили, что до 23 недели развития клетки каротидного клубочка выглядят мономорфными. Однако после этого срока становится возможным дифференцировать светлые, тёмные и пикнотичные (прогениторные) субтипы клеток I типа и клетки II типа. Эти авторы также отметили увеличение количества тёмных клеток при гипоксии, развившейся у детей в результате различных заболеваний [85].

Основываясь на этом делении, Pavaì с соавторами исследовали каротидный клубочек детей, умерших от СВДС, на светооптическом уровне. При морфометрическом исследовании авторы подсчитывали количество светлых, тёмных и прогениторных клеток. Они выяснили, что каротидные клубочки умерших от СВДС детей содержат значительное количество прогениторных клеток по сравнению с контролем [8].

Однако, как мы писали выше, в делении клеток I типа на три субтипа не имеет под собой убедительного обоснования, так как все эти субтипы, вероятнее всего, могут являться лишь артефактами аутолиза.

Lack с соавторами предприняли попытку более масштабного исследования. На большой выборке (89 детей) они провели комплексное изучение органа на

ультраструктурном, светооптическом и биохимическом уровнях. Судя по их результатам, нет никаких статистически значимых различий между контрольной группой и детьми с СВДС. Авторы не исследовали субтипы клеток I типа, и судя по данным из их работы видно, что в среднем от смерти до момента фиксации материала проходило 17 часов в группе СВДС и 4,5 часа в контрольной группе [49]. Это не удивительно, так как от СВДС дети обычно умирают дома, а не в больнице, что удлиняет промежуток между смертью и фиксацией.

Таким образом, на данный момент нет никаких убедительных данных, свидетельствующих о том, что каротидный клубочек каким-либо образом влияет на течение СВДС

### ***1.5.2. Бронхиальная астма***

Предположения о том, что каротидный клубочек может влиять на течение бронхиальной астмы, начали появляться после работ физиологов, исследовавших роль органа на моторику бронхов.

В 1951 году Daly и Schweitzer опубликовали работу, которая показала, что возбуждение хеморецепторов каротидного клубочка вызывает бронходилатацию, в то время как активация барорецепторов каротидного синуса – бронхоконстрикцию [63]. В 1961 году американские физиологи Nadel и Widdicombe модифицировали эксперимент. Раздельно исследуя объем трахеи и сопротивление легких, они пришли к выводу, что активация каротидного клубочка вызывает бронхоконстрикцию, возбуждение же барорецепторов каротидного синуса – бронходилатацию [64].

Обе работы явно противоречили друг другу. Если предположить, что это не артефакт метода, а учёные действительно наблюдали изменения моторики бронхов, то данное противоречие, скорее всего, связано с применением различной анестезии этими группами авторов. Первые применяли для анестезии нембутал, вторые – хлоразол, уретан и морфин. Это предположение, вероятно, имеет под собой реальное обоснование, так как Daly и Schweitzer упомянули, что применение хлоразола в качестве анестезии изменяло результаты эксперимента на прямо

противоположные. Таким образом, можно сделать вывод, что анестезия влияла не на сам каротидный клубочек, а на определённые ядра в стволе головного мозга.

Работы хирургов, выполняющих резекцию каротидного клубочка при бронхиальной астме, также не смогли устранить противоречий [53,66,132]. Лишь малая доля из них включала в себя плацебо-контроль. Морфологическое исследование удалённых тканей проводилась не всегда, а там, где она осуществлялась, отмечался значительный процент отсутствия каротидного клубочка в резецированном материале [65].

Гилевич с соавторами по результатам исследования 100 каротидных клубочков больных с бронхиальной астмой выяснили, что при течении заболевания свыше 10 лет отмечалась выраженная дегенерация паренхимы клубочка и пролиферация соединительной ткани. Их вывод гласил, что чем дольше длилось заболевание, тем меньше паренхимы оставалось в органе и больше разрасталась соединительная ткань. Они не наблюдали никаких положительных результатов у больных с двухсторонней операцией гломэктомией [133]. Однако в данном исследовании не было приведено данных инструментальных исследований, отсутствовал контроль и не были представлены микрофотографии. Описание препаратов также заставляет усомниться в специфичности изменений, так как и в норме отмечается выраженная пролиферация соединительной ткани в органе.

Макарова с соавторами отмечали выраженное улучшение состояния у пациентов на отдалённых сроках после операции (от 3 до 6 лет) [134]. Однако, никаких данных морфологических исследований приведено не было.

Более тщательную работу выполнила Н.С. Королёва. После 131 гломэктомии положительный результат наблюдался в 91%. Однако отдалённые результаты оказались гораздо хуже. 41% больных так и не изменили дозировки применяемых для лечения бронхиальной астмы препаратов, 33% - стали принимать препараты в более высоких дозировках и лишь у 15,2% удалось сократить дозы применяемых препаратов. При этом по результатам гистологического исследования лишь в 61,8% в материале обнаруживалась ткань каротидного клубочка, в 29,8% случаев

отсутствовала, а в 8,4% случаев гистологическое исследование не производилось [135].

Интересна с точки зрения количества пациентов работа Е.С. Карашурова с соавторами. Обобщив 30-летний опыт хирургического лечения более 3000 больных с тяжёлым и средне-тяжёлым течением бронхиальной астмы, авторы заявили, что по их результатам односторонняя гломэктомия давала стойкий положительный результат у 69,5% больных в сроки наблюдения более двух десятилетий, а клиническое выздоровление наступало у 23,2% пациентов [136].

Вслед за гломэктомией часть специалистов из команды Карашурова начала разрабатывать новые методы хирургического лечения бронхиальной астмы. Их основой стало не разрушение каротидного клубочка и структур вегетативной нервной системы, а изменение их активности. Как показали авторы, целесообразнее оказывать воздействие напрямую на синокаротидный нерв и на симпатический ствол с помощью имплантируемых нейростимуляторов второго и третьего поколения. По данным их исследования, этот метод привел помимо снижения частоты и силы приступов к значимому снижению суточной потребности в адrenomиметиках и гормональных препаратах [137].

Однако обе работы, несмотря на все заявляемые успехи, страдают одним существенным недостатком – не было проведено слепого плацебо-контролируемого исследования, что сильно снизило их доказательную ценность. При этом авторы не описывают, были ли осуществлены ложные хирургические вмешательства. Это особенно важно, так как ещё ранние исследователи отмечали, что на течение астмы серьёзное влияние могут иметь различного рода психологические воздействия, в том числе психологический эффект от операции. Слепые плацебо-контролируемые исследования, которые учитывали этот факт, показывали наличие улучшения в обеих группах (контрольной и экспериментальной), но статистических различий между ними не было [50,138].

Таким образом, несмотря на наличие большого числа исследований, пока нет никаких убедительных доказательств целесообразности хирургического воздействия на каротидный клубочек для лечения бронхиальной астмы.

### ***1.5.3. Артериальная гипертензия***

Ряд авторов отмечал увеличение каротидного клубочка у лиц, проживающих на больших высотах, лиц с артериальной гипертензией и гипертрофией миокарда [1,19]. По этой причине некоторые исследователи предположили, что орган может иметь отношение к повышению артериального давления. По их мнению, причина стойкой артериальной гипертензии связана с увеличением базальной импульсации хеморецепторов каротидного клубочка [3,139].

Однако это предположение довольно сомнительно, так как нет никаких методов, способных отличить импульсацию, идущую от барорецепторов каротидного синуса, от импульсации, идущей от самого каротидного клубочка. Результаты немногочисленных хирургических операций, выполненных на людях, пока не выглядят убедительно [2,140]. Более того, даже если действительно после удаления каротидного клубочка у пациентов снижается артериальное давление и нормализуется сердечная деятельность, нет никаких доказательств, что это происходит за счёт хеморецепторов органа, а не прерывания импульсации от барорецепторов.

### ***1.5.4. Сахарный диабет и прочие заболевания***

На основании обнаруженных изменений синтеза различных веществ (в том числе интерлейкинов) в клетках I типа каротидного клубочка, вызванных колебанием уровня глюкозы, ряд исследователей предположил, что помимо хеморецепторной функции орган выполняет роль метаболического сенсора [117,141], а также регулятора иммунных функций [142,143]. Предполагаются различного рода гипотезы, объясняющие механизмы, в которые вовлекается каротидный клубочек. Однако, ориентируясь лишь на молекулярные изменения без учёта морфологических данных, авторы делают слишком смелые гипотезы, подтверждения которых пока нет.

### Заключение к обзору литературы

За более чем 250-летнюю историю изучения морфологии и физиологии каротидного клубочка наука проделала большой путь. Сегодня мы обладаем большим массивом данных, характеризующих каротидный клубочек. Множество работ, посвящённых изучению анатомии и топографии, светооптических характеристик органа, его ультраструктуры, физиологии и молекулярной биологии, внесло большой вклад в понимание работы каротидного клубочка.

Однако, как видно из обзора литературы, до настоящего времени не было создано единой теории, описывающей работу каротидного клубочка. К сожалению, ситуация усугубляется тем, что результаты исследований часто противоречат друг другу. Чаще всего подобные противоречия связаны с большим количеством артефактов, возникающих во время приготовления препаратов органа. Недооценка или незнание тех или иных изменений, вызываемых различными фиксаторами, дегидратирующими агентами, средами для заливки толкает исследователей на неверный путь трактовки полученных результатов.

Второй причиной, затрудняющей создание единой теории, является общепринятая со времён de Castro и Neumans парадигма, согласно которой клетки, получающие афферентную иннервацию, обязательно должны быть рецепторными. Окончательно отвергнув идею об эфферентном характере иннервации, учёные практически единогласно признали хеморецепторную роль клеток I типа. Однако это явно противоречило факту наличия большого количества эфферентных синапсов. Учитывая данные разных исследователей, следует признать, что на клетках каротидного клубочка присутствует оба типа синапсов, принадлежащих чувствительному синусному нерву, при этом процент афферентных синапсов в ряде работ явно завышен.

К сожалению, множество исследователей, трактуя результаты своих работ, практически полностью игнорировали ультраструктурные особенности каротидного клубочка. Большое количество авторов по умолчанию принимало клетки I типа только как рецепторы. В связи с этим они пытались трактовать свои

данные лишь в рамках этой концепции. Любые изменения в выбросе клетками тех или иных веществ объяснялись ими как передача сигнала на нервное окончание.

Обнаружив явное противоречие с ролью катехоламинов в ответе на гипоксию, учёные пытались привязать к роли трансмиттера ряд других веществ. Такими трансмиттерами стали ацетилхолин и АТФ. Количество гипотез, объясняющих роль этих медиаторов, всё увеличивалось, однако все они разбивались о тот факт, что никакие дозы блокаторов, за исключением тех, которые блокировали само проведение по нервному волокну, не могли заблокировать ответ синусного нерва на гипоксию.

Ни одна нейротрансмиттерная теория (будь нейротрансмиттером один ацетилхолин, АТФ или они оба одновременно) не смогла показать своей убедительности. Таким образом, роль каких-либо медиаторов в синаптической передаче сигнала хоть и важна, но только их действием невозможно объяснить физиологию органа.

Ещё больше проблем возникло с определением роли каротидного клубочка в патогенезе ряда заболеваний. На зыбком фундаменте нерешённых проблем нормальной физиологии органа исследователи строили свои теории. Приняв по умолчанию важность клеток I типа, они производили подсчёты их субтипов, размера и количества гранул. Но и здесь возникали противоречия. Если в одной работе находилась связь между изменениями в органе и течением той или иной болезни, то в другой она опровергалась.

Таким образом, приведённые данные свидетельствуют о необходимости комплексного системного подхода в исследовании каротидного клубочка. Следует изучить влияние аутолиза на светооптические и иммуногистохимические свойства органа. Более того, исследование нельзя проводить в отрыве от других элементов симпато-адреналовой системы, наиболее важными из которых являются мозговое вещество надпочечников и орган Цукеркандля. Ограничиваясь одним лишь каротидным клубочком, не рассматривая его фило- и онтогенез как части единой системы, мы не сможем прийти к созданию теории, описывающей его работу, а не создав эту теорию, мы не сможем понять его роль в патологии.

## Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1. Характеристика материала

Для моделирования аутолитических процессов, неизбежных при изучении человеческого материала, и определения влияния различных фиксаторов на ткань был проведён эксперимент на самках крыс Вистар (n=20), возрастом 3-4 месяца, массой тела 200-280 гг. (филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России). На проведение эксперимента получено разрешение биоэтической комиссии ФГБНУ «НИИ морфологии человека» (протокол №16 от 11.11.2015 г). При работе с экспериментальными животными руководствовались Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и в других научных целях (ETS №123), Страсбург, 2006. Животных содержали по 5-6 особей в клетке при естественном освещении, температуре 20-22°C и свободном доступе к воде и пище. Животных выводили из эксперимента с помощью передозировки зоветила («Virbac Sante Animale»; Франция).

#### *Моделирование процессов аутолиза*

Крыс экспериментальной группы (n=10) через 30 минут после остановки сердца помещали в холодильную камеру с температурой 30С на 24 часа, затем проводили вскрытие. Крыс контрольной группы (n=5) вскрывали сразу после остановки сердца. Каротидные клубочки с обеих сторон (30 каротидных клубочков) вместе с фрагментами окружающих тканей извлекали под контролем бинокуляра фирмы («Fisher Scientific»; США). Ткань сутки фиксировали в 10% забуференном формалине («БиоВитрум»; Россия), промежуток между остановкой сердца и помещением образцов ткани контрольной группы крыс в формалин не превышал 6 минут.

#### *Определение влияния фиксаторов на ткань*

Крыс (n=5) вскрывали сразу после остановки сердца. Аналогичным образом извлекали каротидные клубочки с обеих сторон (10 каротидных клубочков). Методом рандомизации отбирали 5 каротидных клубочков для фиксации в 70% спирте, оставшиеся фиксировали в жидкости Карнуа. Промежуток между

остановкой сердца и помещением образцов ткани в фиксаторы также не превышал 6 минут.

#### *Аутопсийный материал*

Работа была выполнена на аутопсийном материале, полученном из МОНИИАГ, ГБУЗ ГКБ имени С.С. Юдина ДЗМ и ФГБУ НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова, Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, ГКБ №31 ДЗМ, а также из коллекции лаборатории развития нервной системы ФГБНУ НИИМЧ. Всего в работе использовано 1 эмбрион, 20 плодов на различных сроках развития (Таблица 3) и 13 взрослых людей (Таблица 4).

При сборе образцов плодов и эмбриона учитывали пол, гестационный возраст, клинический диагноз матери и плода, причины прерывания беременности и причины смерти плода. Если клинические данные отсутствовали, определение возраста плодов проводили согласно критериям, разработанным А.П. Миловановым и С.В. Савельевым [144,145]. Для взрослых людей при сборе материала учитывали пол, возраст, клинический и патологоанатомический диагнозы. Лица с выраженной хронической гипоксией и хронической дыхательной недостаточностью были исключены.

Плоды из коллекции лаборатории развития нервной системы и некоторые плоды, полученные из МОНИИАГ и ГБУЗ ГКБ имени С. С. Юдина ДЗМ, были зафиксированы целиком. 8-ми недельный эмбрион был фиксирован, проведён, залит в парафин целиком и порезан тотально. У плодов №2-5 брали каротидные клубочки, орган Цукеркандля и надпочечники. У плодов №6-21 и у взрослых людей брали только каротидные клубочки.

При препаровке фиксированных и нефиксированных плодов выделяли сонные артерии в области бифуркации вместе с окружающей соединительной тканью, надпочечники и орган Цукеркандля вместе с аортой и окружающей соединительной тканью. У взрослых выделяли сонные артерии в области бифуркации вместе с прилежащими тканями, затем каротидный клубочек отпрепаровывали от окружающих тканей. Каротидные клубочки, надпочечники и органы Цукеркандля фиксировали в формалине (Таблица 3,4).

Таблица 3

## Характеристика использованных в работе образцов тканей эмбриона и плодов человека

№	Пол	Вес, г	Рост, мм	ТКД, мм	Возраст в неделях	Фиксатор	Диагноз
1.				24	8 недель п.о.	формалин	
2.		9,3		49	10 недель п.о.	формалин	
3.				80	13-14 недель п.м.	формалин	
4.					18-19 недель п.м.	Нейтральный забуференный формалин	
5.		210	220		19-20 недель п.м.	Нейтральный забуференный формалин	Гипертоническая болезнь 2 степени, ранняя предэклампсия под вопросом, Гемодинамические нарушения в маточных артериях и пуповине плода, Миома матки, Хронический гастрит ремиссия, Миопия слабой степени
6.	М				21-22 недели п.м.	Нейтральный забуференный формалин	Артрогрипоз, синдром фетальной акинезии, маловодие, вращение плаценты, деформация левой стопы, гипоплазия легких, голень, стопа, аномальное положение кистей, гипоплазия грудной клетки, движения в суставах отсутствует.
7.	Ж	127,5	176	117	17-18 недель п.м.	Нейтральный забуференный формалин	ВПР - spina bifida, синдром Арнольда-Киари, Тромбофилия, РАІ-I, эктопия шейки матки матери
8.	М	1620	400		30 недель п.м.	Нейтральный забуференный формалин	Беременность 30 нед. Монохориальная биамниотическая двойня. Тазовое предлежание 1-го плода. Антенатальная гибель обоих плодов. Многоводие обоих плодов. Рубец на матке после операции кесарева сечения. Гипотиреоз в стадии медикаментозной компенсации. II-ые преждевременные оперативные роды в тазовом предлежании. Антенатальная гибель плода.
9.	М	1390	390		30 недель п.м.	Нейтральный забуференный формалин	Беременность 30 нед. Монохориальная биамниотическая двойня. Тазовое предлежание 2-го плода. Антенатальная гибель обоих плодов. Многоводие обоих плодов. Рубец на матке после операции кесарева сечения. Гипотиреоз в стадии медикаментозной компенсации. II-ые преждевременные оперативные роды в тазовом предлежании. Антенатальная гибель плода.
10.	М	365	240	150	19-20 недель п.м.	Нейтральный забуференный формалин	Истмико-цервикальная недостаточность, самопроизвольный выкидыш.

11.	Ж	285	230	150	19-20 недель п.м.	Нейтральный забуференный формалин	Истмико-цервикальная недостаточность, самопроизвольный выкидыш.
12.	М	315	240	160	19-20 недель п.м.	Нейтральный забуференный формалин	Истмико-цервикальная недостаточность, самопроизвольный выкидыш.
13.		105		123	16-17 недель п.м.	Нейтральный забуференный формалин	Миома
14.					14-15 недель п.м.	формалин	
15.			162	107	15-16 недель п.м.	формалин	Кровотечение в ранние сроки беременности
16.					15-16 недель п.м.	формалин	Нерезвивающаяся беременность
17.					18-19 недель п.м.	формалин	Кровотечение в ранние сроки беременности, полипэктомия
18.					15-16 недель п.м.	формалин	
19.	Ж			150	16 недель п.м.	Нейтральный забуференный формалин	
20.	Ж	146	185	135	16 недель п.м.	Нейтральный забуференный формалин	
21.	М	414	295	190	21 неделя п.м.	Нейтральный забуференный формалин	Резко выраженная гидроцефалия с выраженной компрессией мозговой ткани. Синдром Арнольда-Киари. Гипоплазия мозжечка. Дефект позвоночника в нижних отделах, spina-bifida.

## Характеристика использованных в работе образцов каротидного клубочка взрослых

№	Пол	Возраст, лет	Фиксатор	Диагноз
22.	Ж	24	Нейтральный забуференный формалин	<p><b>Основное заболевание.</b> Протяженная ожоговая стриктура пищевода, стеноз антрального отдела желудка. Химический ожог щелочью пищевода и желудка от 01.04.16 г.</p> <p>Операции: 02.06.2016 трансхиатальная эзофагогастрэктомия с одномоментной антиперистальтической эзофагоколонпластикой левой половиной ободочной кишки.</p> <p><b>Осложнения.</b> Дисфагия 3 ст. Нутритивная недостаточность. Атоническая кома. Вазогенный шок. Вторичная мезентериальная ишемия с повреждением трансплантата пищевода. Левосторонняя полисегментарная пневмония.</p>
23.	Ж	87	Нейтральный забуференный формалин	<p><b>Основное заболевание.</b> I. ИБС: повторный инфаркт миокарда без подъёма сегмента ST передней стенки ЛЖ от 10.01.18, рецидивирующее течение, рецидив от 22.01.18. Атеросклеротический и постинфарктный кардиосклероз (11.2017, 12.2017). Атеросклероз сосудов сердца, мозга, брахиоцефальных артерий. Коронароангиография от 12.2017: многососудистое поражение коронарных артерий с вовлечением ствола ЛКА. Стентирование ПКА от 12.2017. Коронароангиография от 16.01.18. Стентирование ЛКА и ПМЖВ (имплантировано 2 стента: STBRIG 3,0x30 мм и STBRIG 3,5x26 мм). Нарушение ритма сердца и проводимости: пароксизмальная форма мерцательной аритмии. Хроническая митральная, трикуспидальная недостаточность III степени. Преходящая блокада ЛНПГ.</p> <p>II. ОНМК в вертебро-базилярном бассейне ~ от 20.01.2018</p> <p><b>Фоновое заболевание.</b> Гипертоническая болезнь III ст., 3 ст., риск ССО 4. Дислипидемия.</p> <p><b>Осложнения.</b> НК 11А. Часто рецидивирующие пароксизмы фибрилляции предсердий. Рецидивирующий отёк лёгких. ОССН. Кардиогенный шок. ИВР от 22.01.18. ИВЛ от 22.01.2018. Состояние после реанимационных мероприятий от 22.01.18.</p> <p><b>Сопутствующие заболевания.</b> ХОБЛ. Хронический обструктивный бронхит. Хронический калькулёзный холецистит. Хроническая анемия лёгкой степени, железодефицитная.</p>
24.	М	63	Нейтральный забуференный формалин	<p><b>Основное заболевание.</b> ИБС. Постинфарктный кардиосклероз с формированием хронической аневризмы ЛЖ (ОИМ от 2017г). Атеросклероз аорты, коронарных сосудов.</p> <p><b>Фоновое заболевание.</b> Гипертоническая болезнь III стадии, риск 4.</p> <p><b>Осложнения.</b> Ишемическая дилатация полостей сердца. Синдром малого сердечного выброса. Тромбоз верхушки ЛЖ. Тромбоэмболия ветвей лёгочной артерии. ХСН IIБ. Двухсторонняя нижнедолевая пневмония. Прогрессирующая сердечно-сосудистая и дыхательная недостаточность. Отёк лёгких. Отёк мозга.</p> <p><b>Сопутствующие заболевания.</b> Облитерирующий атеросклероз левой н/к 1998 г. и тромбоз правой н/к 2000 г. Ампутация нижних конечностей (1998г, 2000г).</p>

25.	Ж	69	Нейтральный забуференный формалин	<p><b>Основное заболевание.</b> Рак левой молочной железы, прогрессирование процесса. Метастатическое поражение лёгких, кишечника, лимфоузлов, печени. Левосторонняя мастэктомия от 2012г. Состояние после 14 курсов ПХТ. Раковая интоксикация.</p> <p><b>Осложнения.</b> СПОН. Прогрессирующая сердечно-сосудистая, дыхательная, почечная недостаточность. Отёк лёгких. Отёк головного мозга.</p> <p><b>Сопутствующие заболевания.</b> ИБС: атеросклеротический кардиосклероз. Атеросклероз коронарных артерий, аорты. Гипертоническая болезнь III ст., 3 ст., 4 риск. Нефроангиосклероз. Хронический гломерулонефрит. Сморщенные почки. ХПН 5 ст. Имплантация перитонеального катетера ПАПД от 02.10.2017. Перитонеальный диализ. ЦВБ, субкомпенсация. Коксартроз левого тазобедренного сустава. ЖКБ, хронический калькулёзный холецистит.</p>
26.	М	62	Нейтральный забуференный формалин	<p><b>Основное заболевание.</b> Мультифокальный атеросклероз. Атеросклероз аорты, подвздошных артерий и артерий нижних конечностей. Синдром Лериша. Критический стеноз подвздошных артерий с обеих сторон. Стеноз артерий бедренно-подколенного сегмента с обеих сторон. Хроническая ишемия нижних конечностей 3 степени.</p> <p><b>Сопутствующие заболевания.</b> Атеросклероз брахиоцефальных артерий. Стеноз правой ВСА 60%, левой ВСА 50%. Сосудисто-мозговая недостаточность 1 степени. ИБС. Стенокардия напряжения 2-3 ФК. Атеросклероз коронарных артерий. ТЛБАП со стентированием ПКА стентами Resolute ONYX DES 3,0x34 мм и Resolute ONYX DES 3.5x26 мм (17.10.2017г.). ТЛБАП со стентированием ОА стентом Xience 3,0x33 мм (15.11.17г.). Дислипидемия. Гипертоническая болезнь 3ст., 3 ст., риск 4. Нарушение обмена углеводов неуточнённое.</p>
27.	Ж	78	Нейтральный забуференный формалин	<p><b>Основное заболевание.</b> I. Дисциркуляторная энцефалопатия 3 стадии, медленно прогрессирующего течения, с когнитивными нарушениями, лобной дизбазией; стенозирующий атеросклероз артерий головного мозга. Длительная иммобилизация.</p> <p>II. Атеросклеротический кардиосклероз. Атеросклероз сосудов головного мозга, аорты.</p> <p><b>Осложнения.</b> Инфицированный пролежень области левого тазобедренного сустава IV ст. Хроническая гнойная интоксикация. Сепсис. Гиповолемический и септический шок. ОССН. Отёк мозга. Кома. Энтеропатия. ОДН. ОПН. Неокклюзивный нефлоттирующий 2х сторонний илеофemorальный тромбоз.</p> <p><b>Сопутствующие заболевания.</b> Гипертоническая болезнь. Кахексия. Гипопротеинемия. Хр. анемия смешанного генеза. Последствия ОНМК (2017г.).</p>
28.	М	67	Нейтральный забуференный формалин	<p><b>Основное заболевание.</b> ИБС. Постинфарктный кардиосклероз. Мерцательная аритмия, пароксизмальная форма. Острое нарушение мозгового кровообращения по ишемическому типу в бассейне левой внутренней сонной артерии. Острое нарушение мозгового кровообращения по ишемическому типу в вертебрально-базиллярном бассейне. Кардиоэмболический подтит по TOAST.</p> <p><b>Фоновое заболевание.</b> Гипертоническая болезнь III ст., 3 ст., риск 4.</p> <p><b>Осложнения.</b> Бронхопневмония смешанного генеза (застойного, вторично-бактериального), двусторонний гидроторакс. Тромбоземболия лёгочной артерии. Острые эрозии и язвы верхних отделов желудочно-кишечного тракта. Полиорганная недостаточность. (церебральная, респираторная, миокардиальная, почечная). Отёк, дислокация головного мозга.</p>

				<b>Сопутствующие заболевания.</b> Сахарный диабет 2 типа, средней тяжести, впервые выявленный, декомпенсация. Хроническая мочевиная инфекция в стадии обострения. Дерматит голени и стоп. Онихомикоз стоп.
29.	Ж	86	Нейтральный забуференный формалин	<b>Основное комбинированное заболевание.</b> 1. ХОБЛ: хронический слизисто-гнойный бронхит, обострение, ас. Klebsiella pneumoniae. Эмфизема. Пневмосклероз. 2. ИБС: Атеросклеротический кардиосклероз, нарушение сердечного ритма: фибрилляция предсердий, персистирующая форма, предсердная экстрасистолия, желудочковая, временами миграция суправентрикулярного водителя ритма. <b>Фоновое заболевание.</b> Гипертоническая болезнь, 3 ст., АГ 3, риск 4. <b>Осложнения.</b> Двухсторонняя полисегментарная пневмония. ОДН. НК 2А. Отёк лёгких. Острая сердечно-сосудистая недостаточность. <b>Сопутствующие заболевания.</b> Ушиб мягких тканей головы. ХВН вен нижних конечностей. Хроническая мочевиная инфекция, обострение. Операция трахеостомия 01.03.2018.
30.	Ж	80	Нейтральный забуференный формалин	<b>Основное заболевание.</b> 1. Частичная кишечная непроходимость. 2. ИБС. Постинфарктный кардиосклероз.
31.	М	79	Нейтральный забуференный формалин	<b>Основное заболевание.</b> Опухоль головного мозга. <b>Осложнения.</b> НК2Б. Пневмония смешанного генеза (застойная, вторично-бактериальная) в нижних долях обоих лёгких. ДН2 ст. ТЭЛА. Острая очаговая дистрофия миокарда без признаков острого коронарного тромбоза. Нарушение ритма сердца по типу пароксизмальной формы фибрилляции предсердий вне пароксизма. Отёк вещества и оболочек головного мозга. Хронический пиелонефрит, обострение. <b>Сопутствующие заболевания.</b> ИБС: постинфарктный (2014) и атеросклеротический кардиосклероз. Стентирование коронарных артерий в 2014 году. Гипертоническая болезнь 3 стадии, артериальная гипертензия 3 степени, риск 4. Атеросклероз аорты, коронарных и мозговых сосудов. Сахарный диабет 2-го типа, субкомпенсация. ХБП 3Б стадии. МКБ. Нефростомия.
32.	Ж	95	Нейтральный забуференный формалин	<b>Основное заболевание.</b> 1. Последствия ОНМК от 2010г. Дизартрия, левосторонний гемипарез. Эписиндром. Состояние после генерализованных судорожных приступов от 13.05.2018 неуточнённого генеза. 2. ИБС. Атеросклеротический кардиосклероз. Атеросклероз аорты, коронарных и брахиоцефальных артерий. Гипертоническая болезнь III стадии, 3 степени АГ (корригирована до 1 степени), риск ССО 4. <b>Осложнения.</b> Нарушение ритма сердца по типу персистирующей формы фибрилляции предсердий, нормосистолический вариант. НК IIIА: застойная пневмония в нижних отделах обоих лёгких, двусторонний гидроторакс. Хроническая анемия лёгкой степени. <b>Сопутствующие заболевания.</b> ЖКБ. Хронический калькулёзный холецистит. Хронический пиелонефрит, вне обострения. Артифакция обоих глаз. Гипертоническая ангиопатия.
33.	М	68	Нейтральный забуференный формалин	<b>Основное заболевание.</b> 1. Последствия ОНМК по геморрагическому типу в правой гемисфере от 15.03.16. Состояние после декомпрессионной трепанации черепа в правой лобно-теменно-височной области, удаления внутримозговой гематомы объёмом 50см <sup>3</sup> от 15.03.16.

				<p>2. Атеросклеротический кардиосклероз. Коронарное шунтирование в 2015 году. Дегенеративный митральный клапанный порок сердца. Протезирование МК в 2015 году.</p> <p><b>Фоновое заболевание.</b> Гипертоническая болезнь III ст., 3 ст., риск 4.</p> <p>3. Рак мочевого пузыря (ТУР в 2008г).</p> <p><b>Осложнения.</b> Когнитивные нарушения. Бульбарный синдром. Симптоматическая эпилепсия. Сложные нарушения ритма. Очаговые изменения миокарда. Аспирация желудочным содержимым. Двусторонняя пневмония. ТЭЛА. Отёк лёгких. Отёк мозга. ОДН. ОССН. Острые язвы и эрозии ЖКТ. Гастростаз.</p> <p><b>Сопутствующие заболевания.</b> ЖКБ. Хронический калькулёзный холецистит. Холецистостомия от 16.04.18.</p>
34.	Ж	56	Нейтральный забуференный формалин	<p><b>Основное заболевание.</b> 1. Энцефалопатия сложного генеза (токсического – длительный приём нейролептиков, сосудистого, дисметаболического генеза), декомпенсация.</p> <p>2. ИБС. Атеросклеротический кардиосклероз. Атеросклероз аорты, сосудов сердца.</p> <p><b>Осложнения.</b> Двухсторонняя нижнедолевая пневмония. Левосторонний гидроторакс. ДН 2. Острая почечно-печёночная недостаточность. Водно-электролитные нарушения. Агранулоцитоз (длительный приём препаратов лития, азалептина). Анемия средней тяжести. Острый холецистит. Сладж-синдром. Сепсис. Септический шок. Острая сердечно-сосудистая, острая дыхательная недостаточность. Отёк лёгких, отёк головного мозга.</p> <p><b>Сопутствующие заболевания.</b> Диффузный деформирующий бронхит 1-2 степени интенсивности воспаления. Шизофрения параноидная, непрерывное течение, обострение. Тотальный микоз пищевода. Субтотальный эрозивно-язвенный микозный гастрит. Выраженный дуодено-гастральный рефлюкс желчи.</p>

## 2.2. Методы исследования

### 2.2.1. Методы гистологического исследования

Ткань проводили по стандартному протоколу через изопреп («БиоВитрум»; Россия), заливали в «Histomix» («Биовитрум»; Россия). Тотальные серийные срезы образцов толщиной 5 мкм (каротидные клубочки крыс) и 6 мкм (каротидные клубочки человека) изготавливали на микротоме («Leica RM2245»; Германия). Каждый 20-ый срез наклеивали на предметное стекло, депарафинировали и окрашивали по стандартной методике гематоксилином и эозином, заключали в бальзам или синтетическую среду.

### 2.2.2. Методы иммуногистохимического исследования

Для проведения иммуногистохимических реакций выбирали самые большие по площади срезы органа. Их депарафинировали, регидратировали и обрабатывали 3% раствором перекиси водорода для блокировки эндогенной пероксидазы. Затем срезы помещали в раствор «Ultra V Block» (Thermo Fisher Scientific; USA), для демаскировки антигенов предварительно производили кипячение в цитратном буфере (pH 6.0). Проводили иммуногистохимические реакции с первичными антителами (Таблица 5). Срезы инкубировали с антителами в течение 60 мин при комнатной температуре. В качестве системы детекции использовали набор UltraVision Quanto Detection System (Thermo Fisher Scientific; США).

Для позитивного контроля использовали срезы верхнего шейного ганглия, мозга человека. Негативным контролем служили реакции с заменой первых антител на раствор фосфатного буфера.

Таблица 5

#### Характеристика первичных антител

№	Антиген, вид животного, производитель	Разведение антител
1	bIII-тубулин, кроличьи поликлон. Abcam (Великобритания)	1:500
2	PGP9.5, мышинные моноклон. Thermo Fisher Scientific (США)	1:300
3	Нейрофиламенты 200кД, мышинные моноклон. Merck (Германия)	1:160
4	S100, кроличьи поликлон. Thermo Fisher Scientific (США)	1:1200
5	Тирозингидроксилаза, кроличьи поликлон. Abcam (Великобритания)	1:160
6	GFAP Ab-4, кроличьи поликлон. Thermo Fisher Scientific (США)	1:200-1:1000
7	Синаптофизин, мышинные моноклон. Abcam (Великобритания)	1:100

### ***2.2.3. Методы микроскопического исследования гистологических и иммуногистохимических препаратов***

Срезы просматривали при помощи светового микроскопа («Leica DM2500»; Германия). При обнаружении патологических изменений иной этиологии (воспаление, тракционные артефакты и т.д.) ткань исключали из эксперимента (5 органов крыс экспериментальной группы).

#### *Моделирование процессов аутолиза*

Проанализированы 25 каротидных клубочков крыс (контрольной и экспериментальной групп). При просмотре гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, описывали структуру каротидных клубочков, обращали внимание на состояние цитоплазмы и ядер клеток.

Каждый 20 срез органа, окрашенный гематоксилином и эозином, полностью фотографировали при помощи камеры («ЛОМО ТСА-9.0»; Россия) при увеличении 400х. Цифровые изображения были сохранены в форматах JPEG и TIFF, выравнивание яркости и контраста производили при помощи программы Adobe Photoshop CC 2019 (Adobe Systems, Inc., San Jose, CA, USA). Подсчёт светлых, тёмных и пикнотичных клеток осуществляли с использованием программы ImageJ 1.52n (США).

#### *Определение влияния фиксаторов на ткань*

Аналізу были подвергнуты 10 каротидных клубочков крыс. При исследовании гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, описывали структуру каротидных клубочков, обращали внимание на состояние цитоплазмы и ядер клеток.

При оценке иммуногистохимических препаратов отмечали наличие или отсутствие специфической иммунопозитивной реакции, распределение иммунореактивного материала в строме и паренхиме, распределение иммунореактивного материала внутри клеток – ядерная или цитоплазматическая локализация.

### *Аутопсийный материал*

Исследованы 35 каротидных клубочков, 5 органов Цукеркандля и 10 надпочечников. При просмотре гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, описывали структуру органов, обращали внимание на состояние цитоплазмы и ядер клеток, соотношение стромы и паренхимы.

При оценке иммуногистохимических препаратов отмечали наличие или отсутствие специфической иммунопозитивной реакции, распределение иммунореактивного материала в строме и паренхиме, а также внутри клеток – ядерная или цитоплазматическая локализация.

Для морфометрического анализа срезы органов фотографировали целиком при помощи камеры («ЛОМО ТСА-9.0»; Россия) при увеличении 100х. Цифровые изображения были сохранены в форматах JPEG и TIFF, выравнивание яркости и контраста и морфометрия производили при помощи программ Adobe Photoshop CC 2019 (Adobe Systems, Inc., San Jose, CA, USA) и ImageJ 1.52n (США).

Для оценки эндокринной функции определяли «коэффициент ТН/бШ» (ТН/бШ), показывающий соотношение площади окрашенного материала маркёром к тирозингидроксилазе к площади окрашенного материала маркёром к бШ-тубулину. Площади подсчитывали с помощью программы ImageJ 1.52n (США) автоматически, соотношение вычисляли в программе Microsoft Excel 2019.

#### **2.2.4. Статистические методы**

Для оценки статистической значимости полученных результатов использовали программу Statistica 13.5. Характер распределения определяли при помощи критерия Колмогорова-Смирнова, поскольку он был отличен от нормального, для оценки достоверности различий использовали непараметрический критерий Уилкоксона-Манна-Уитни. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1. Влияние аутолиза на морфологию каротидного клубочка

*Контрольная группа (время до фиксации не более 6 минут после смерти)*

При световой микроскопии в контрольной группе крыс в органе отмечалась практически однородная популяция клеток I типа (Таблица 6). Они имели округлые либо овальные светлые ядра с нежными нитями хроматина, иногда обнаруживались 2-4 мелких ядрышка. Цитоплазма была светлая, пенистая. Лишь незначительное количество клеток можно было отнести к подтипу тёмных. Их ядра были более гиперхромными, овальной или круглой формы, по размеру соответствовали ядрам светлых клеток. Цитоплазма их аналогична светлым. Отмечались единичные пикнотичные клетки с гиперхромными, мелкими ядрами. Цитоплазма окружала ядро в виде узкого ободка (Рис. 12А).

Клетки II типа были представлены однородной популяцией, окружающей скопления клеток I типа. Они были веретеновидной формы с вытянутыми ядрами (Рис. 12А).

Ганглионарные нейроны прилежащего к каротидному клубочку верхнего шейного ганглия имели большие светлые круглые ядра с крупным эозинофильным ядрышком и нежными нитями хроматина. В ядрах некоторых клеток определялись по два ядрышка. Цитоплазма нейронов светлая слабо зернистая с небольшим количеством базофильных гранул, отмечалась её неравномерная вакуолизация (Рис. 13А).

*Экспериментальная группа (время до фиксации 24 часа после смерти)*

При световой микроскопии в экспериментальной группе в органе отмечалось значительное увеличение тёмных и пикнотических клеток (Таблица 6), причем количество тёмных в разы превышало количество светлых. При этом различия между контролем и экспериментальной группой были статистически значимыми (Рис. 14). Помимо этого, цитоплазма практически всех клеток образовывала узкий ободок вокруг ядер и распадалась на глыбки (Рис. 12Б). Таким образом, морфологическая картина каротидного клубочка крыс через 24 часа после смерти

была практически идентична морфологической картине каротидного клубочка человека.

Ганглионарные нейроны, как и в контроле, имели круглые ядра. Однако хроматин во многих клетках был смещён на периферию к ядерной оболочке так, что в центре ядер образовывались пустоты, а сама ядерная оболочка становилась более выраженной и базофильной. В цитоплазме отмечалось большое количество хорошо заметных вакуолей. В целом морфологическая картина напоминала картину выраженной гидропической дистрофии (Рис. 13Б).

Таблица 6

Абсолютное количество подсчитанных клеток I типа в органе

<i>Экспериментальная группа</i>				
	<i>клетки</i>			
	<i>светлые</i>	<i>темные</i>	<i>пикнотичные</i>	<i>общее количество</i>
<b>1</b>	173	441	97	711
<b>2</b>	272	567	30	869
<b>3</b>	226	417	11	654
<b>4</b>	240	545	18	803
<b>5</b>	67	350	14	431
<b>6</b>	103	124	14	241
<b>7</b>	110	263	52	425
<b>8</b>	78	241	6	325
<b>9</b>	194	404	17	615
<b>10</b>	239	606	48	893
<b>11</b>	145	217	18	380
<b>12</b>	140	347	5	492
<b>13</b>	110	395	6	511
<b>14</b>	168	368	64	600
<b>15</b>	132	279	8	419
<i>Контрольная группа</i>				
<b>1</b>	636	35	0	761
<b>2</b>	494	31	0	525
<b>3</b>	497	27	0	524
<b>4</b>	598	15	0	613
<b>5</b>	322	29	1	352
<b>6</b>	600	26	0	626
<b>7</b>	290	7	0	297
<b>8</b>	235	18	0	253
<b>9</b>	625	10	0	635
<b>10</b>	767	39	0	806

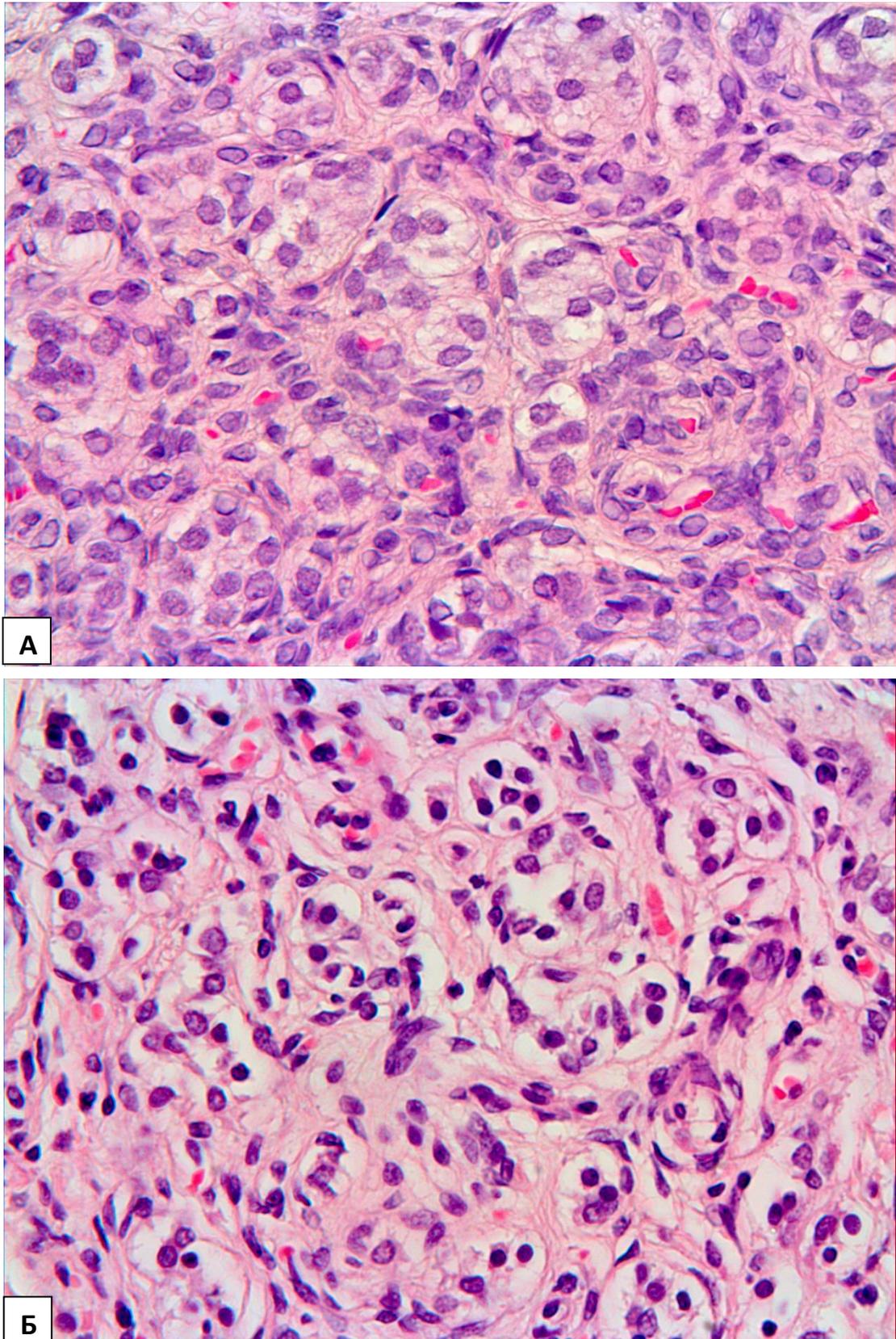


Рис. 12. Отчётливые различия между контрольным (А) и аутолизированным (Б) каротидным клубочком. Через 24 часа после смерти отмечается появление большого количества тёмных и пикнотичных клеток. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 400х

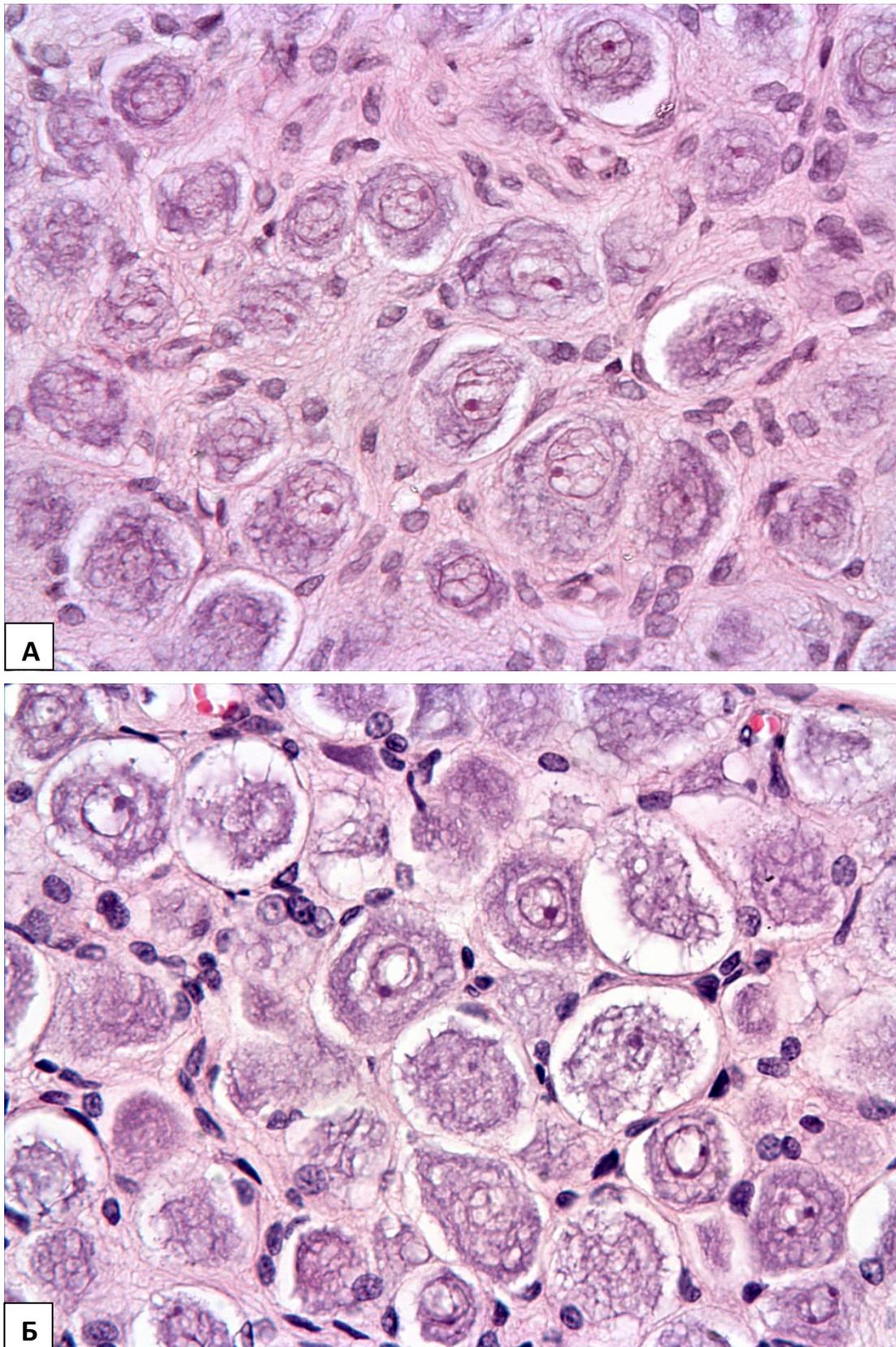


Рис. 13. Ганглионарные нейроны верхнего шейного ганглия в контроле (А) и через 24 часа после смерти (Б). Отмечаются ядерные пустоты и усиление вакуолизации цитоплазмы. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 400х

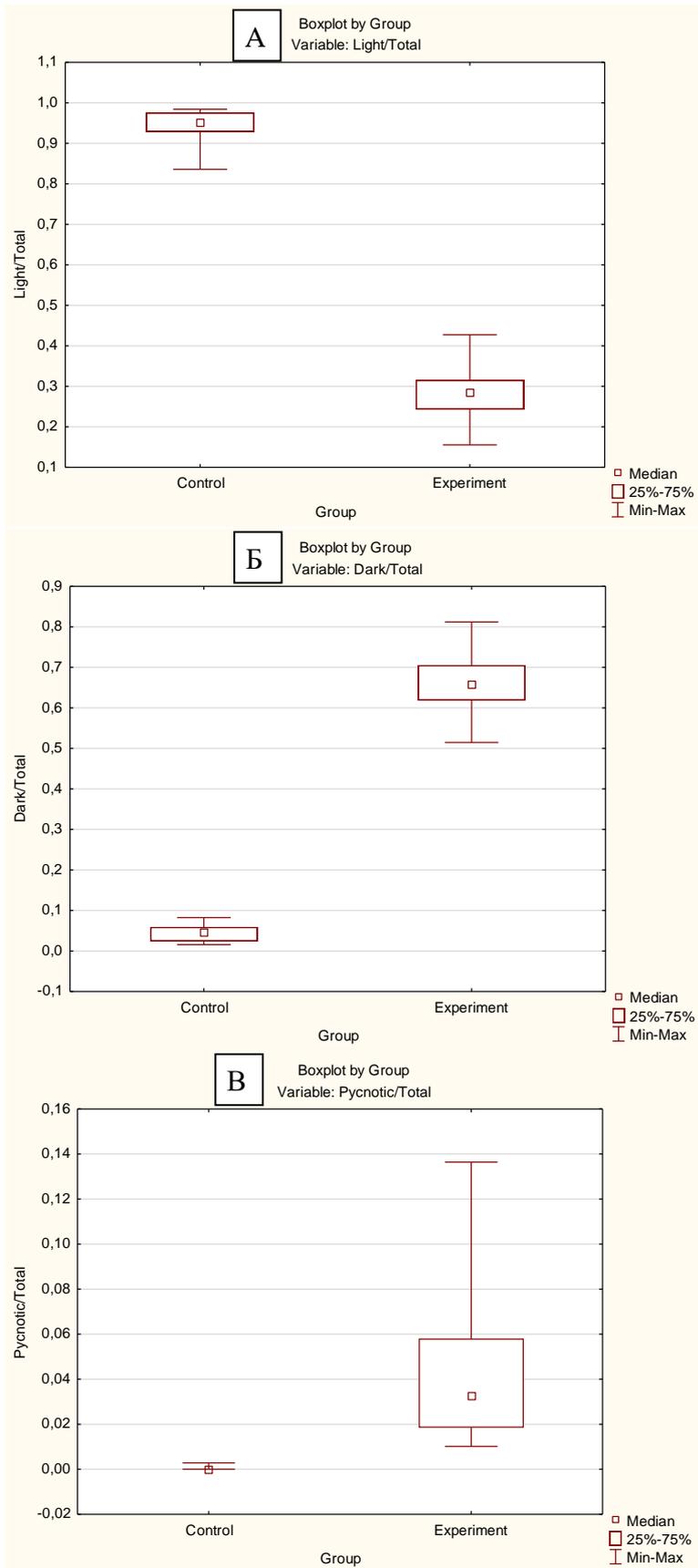


Рис. 14. Отношение светлых (А), тёмных (Б) и пикнотических (В) клеток к общему количеству клеток I типа в контроле и через 24 часа после смерти. Статистически значимые различия ( $p < 0,05$ )

*Иммуногистохимическое исследование*

Иммуногистохимические реакции с антителами к  $\beta$ III-тубулину (Рис. 15 А, Б), PGP9.5 (Рис. 15 В, Г), тирозингидроксилазе (Рис. 16 А, Б), синаптофизину (Рис. 16 В, Г) и S100 (Рис. 17 А, Б) не теряли своей интенсивности в экспериментальной группе по сравнению с контролем. Первые четыре маркёра обнаруживались в клетках I типа и нервных волокнах, S100 – в клетках II типа и шванновских клетках. Нейрофиламенты не выявлялись в тонких интра- и межлобулярных волокнах каротидного клубочка через 24 часа после смерти (Рис. 17Г), но реакция сохранялась в более крупных экстраорганных нервных волокнах.

Необычной оказалась позитивная ядерная реакция с антителами к нейрофиламентам, наблюдаемая только на фиксированной не более чем через 6 минут ткани (Рис. 17В). Положительное окрашивание ядер нейронов и гломусных клеток сочеталось с окрашиванием ядер клеток соединительной ткани. Вероятно, в данном случае имеет место неспецифическое связывание антител с каким-либо ядерным белком, концентрация которого резко падает в результате аутолиза.

Используемый клон антител к GFAP оказался очень нестабильным маркёром для периферической нервной системы и каротидного клубочка (Рис. 18А), разведение пришлось варьировать от 1:200 до 1:1000, хотя в центральной нервной системе он показывал стабильные результаты при разведении 1:1000. Через 24 часа после смерти реакция резко теряла интенсивность вплоть до полного её отсутствия (Рис. 18Б), хотя в центральной нервной системе реакция сохранялась.

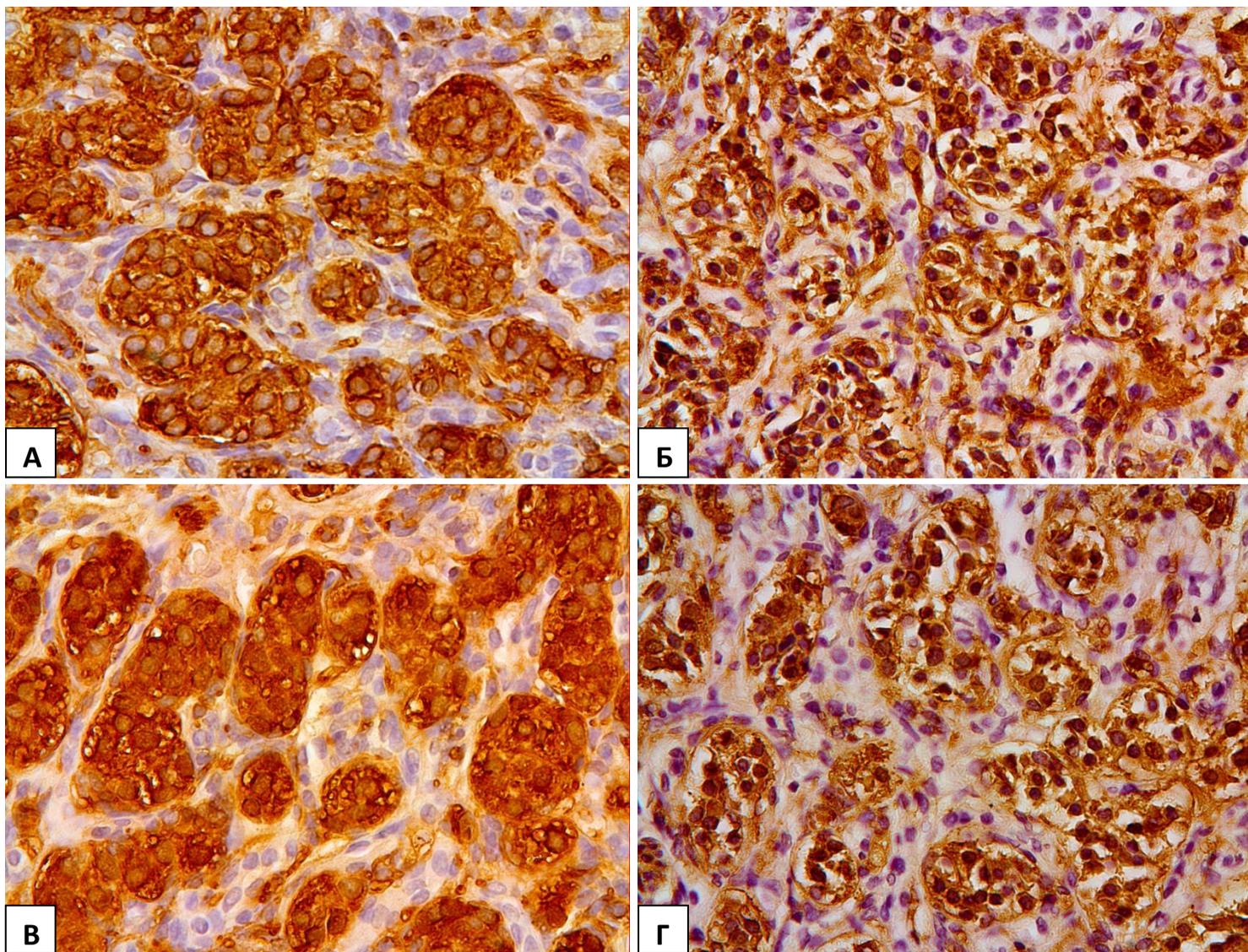


Рис. 15. Иммуногистохимическая реакция на вIII-тубулин в контроле (А) и через 24 часа после смерти (Б); на PGP9.5 в контроле (B) и через 24 часа после смерти (Г). Увеличение 400х

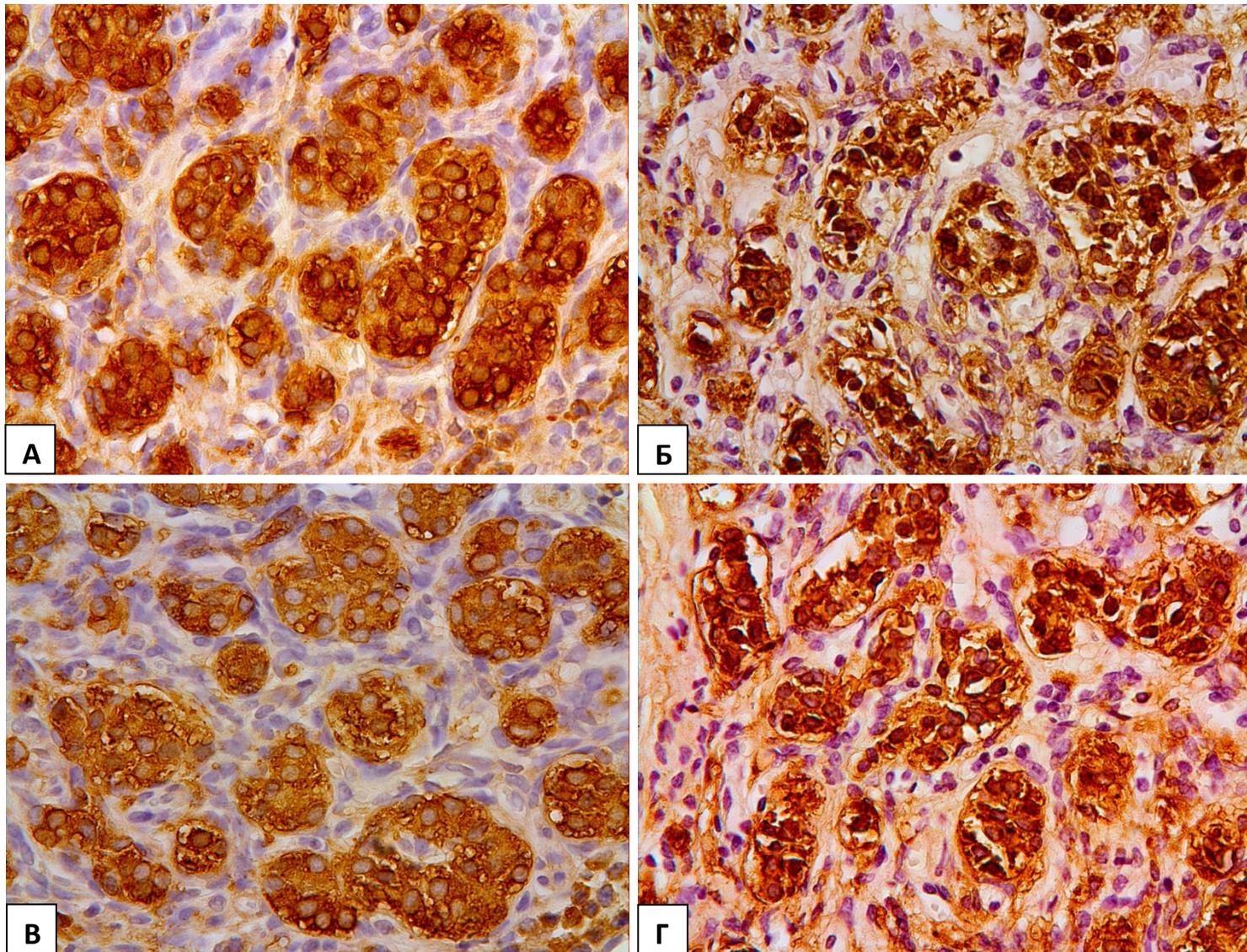


Рис. 16. Иммуногистохимическая реакция на тирозингидроксилазу в контроле (А) и через 24 часа после смерти (Б); на синаптофизин в контроле (В) и через 24 часа после смерти (Г). Увеличение 400х

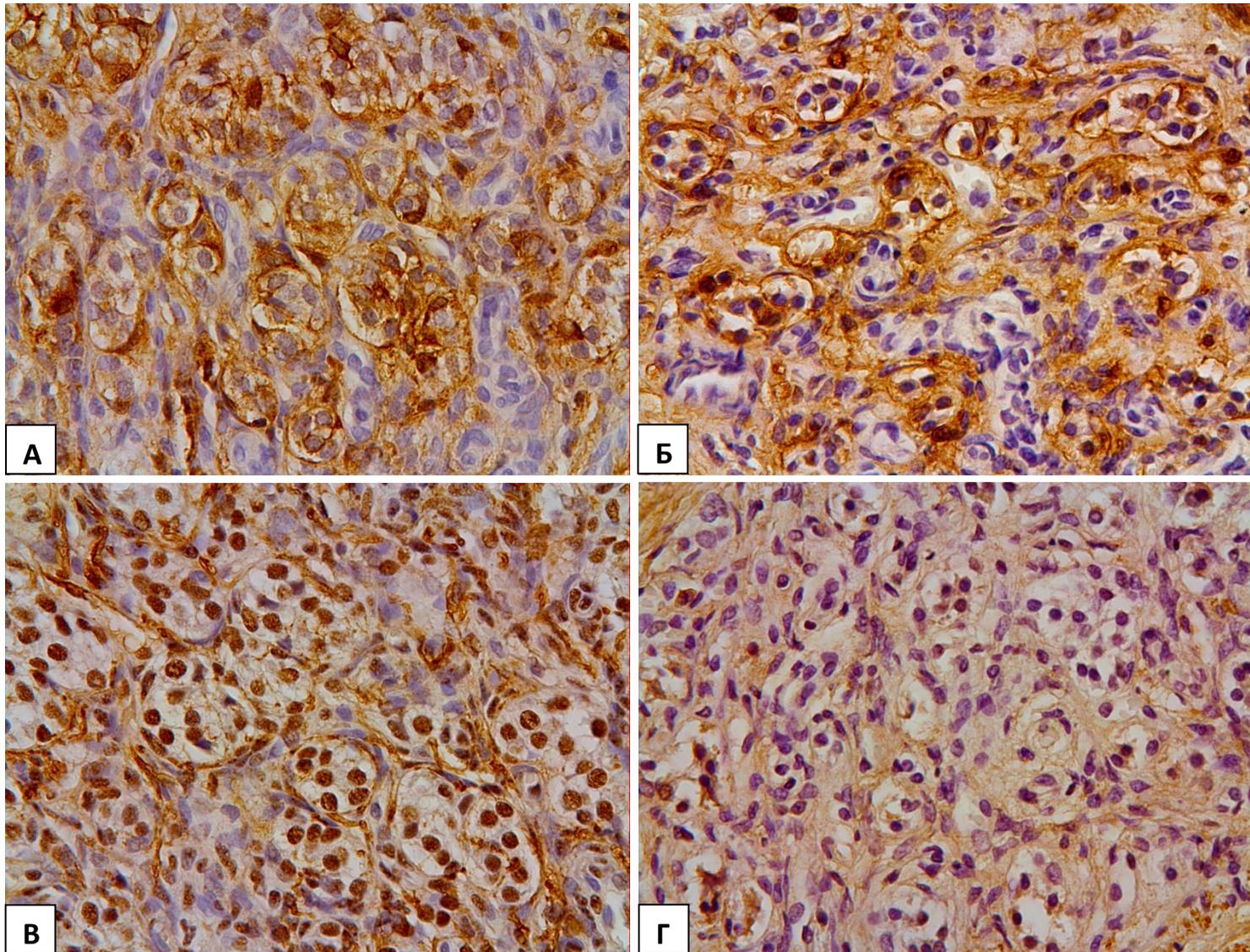


Рис. 17. Иммуногистохимическая реакция на S100 в контроле (А) и через 24 часа после смерти (Б); на нейрофиламенты в контроле (В) и через 24 часа после смерти (Г). Увеличение 400х

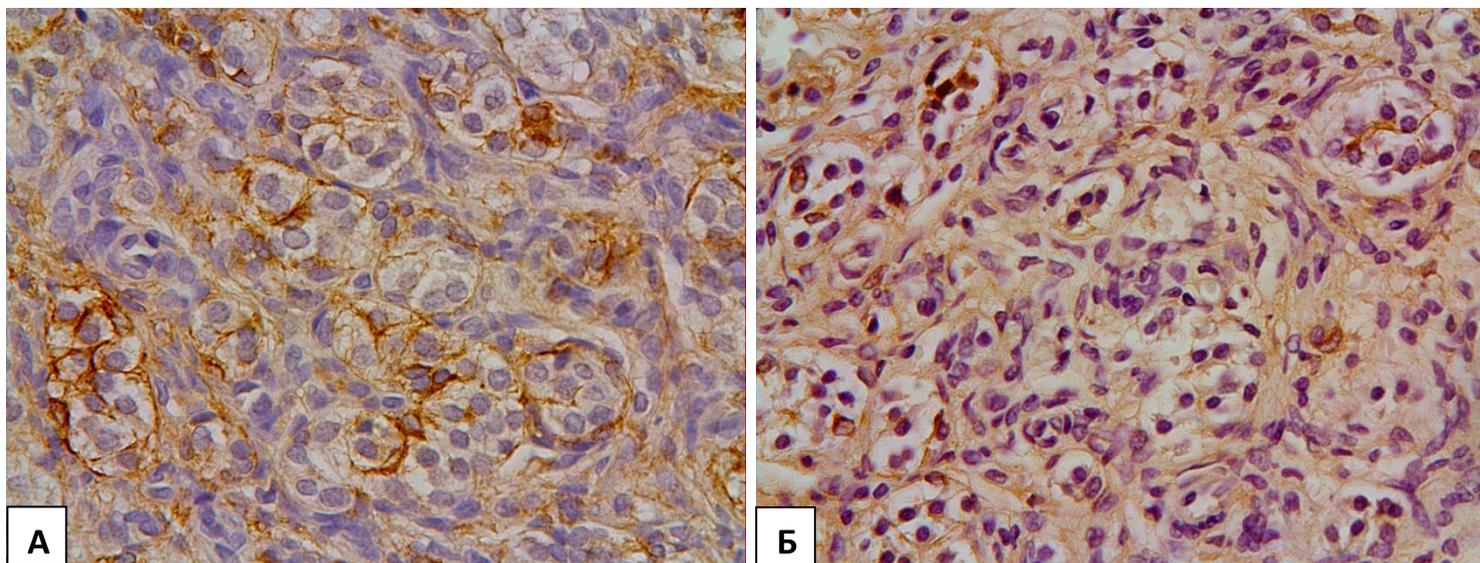


Рис. 18. Иммуногистохимическая реакция на GFAP в контроле (А) и через 24 часа после смерти (Б). Увеличение 400х

### 3.2. Влияние типа фиксатора на морфологию каротидного клубочка

По сравнению с формалиновой фиксацией ткань, фиксированная в жидкости Карнуа и 70% спирте, имела ряд отличий.

#### *Фиксация в жидкости Карнуа*

При световой микроскопии клетки I типа имели круглые ядра с более выраженной зернистостью хроматина. Их цитоплазма была более эозинофильна с мелкими едва видимыми эозинофильными гранулами. Клетки I типа лежали плотно друг к другу, образуя чётко определяемые гнёзда или тяжи, окружённые вытянутыми веретеновидными клетками II типа. Клетки I типа представляли мономорфную популяцию, то есть не отмечалось никакого деления на светлые, тёмные или пикнотические субтипы (Рис. 19А).

Ганглионарные нейроны так же, как и в случае формалиновой фиксации, имели круглые ядра с крупным ядрышком, однако хроматин был с более грубыми глыбками. Цитоплазма нейронов была ярко эозинофильной. По сравнению с формалиновой фиксацией в цитоплазме определялось множество базофильных глыбок вещества Ниссля. Никаких вакуолей в цитоплазме не обнаруживалось (Рис. 20А).

#### *Фиксация в 70% спирте*

Наблюдаемая микроскопическая картина ткани, фиксированной в 70% спирте, была схожей таковой, фиксированной в жидкости Карнуа. Однако отмечалась более выраженная эозинофилия цитоплазмы и ядер клеток I и II типов (Рис. 19Б) и ганглионарных нейронов (Рис. 20Б). Помимо этого, клетки каротидного клубочка подверглись более сильному сжатию, поэтому они уже не лежали плотными группами, а между их мембранами отмечались узкие щели (Рис. 19Б).

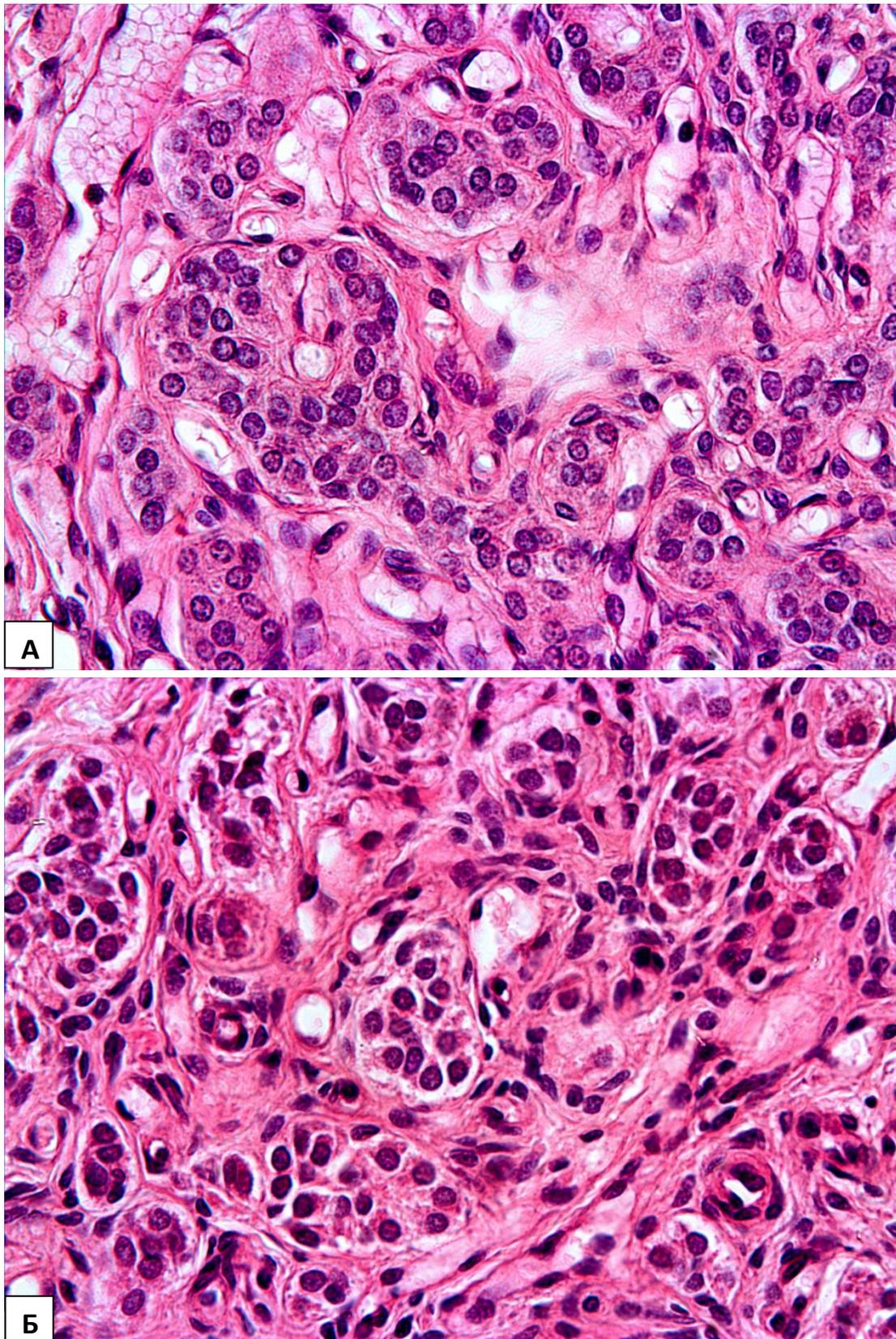


Рис. 19. Каротидный клубочек, фиксированный в жидкости Карнуа (А), в спирте (Б). Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 400х

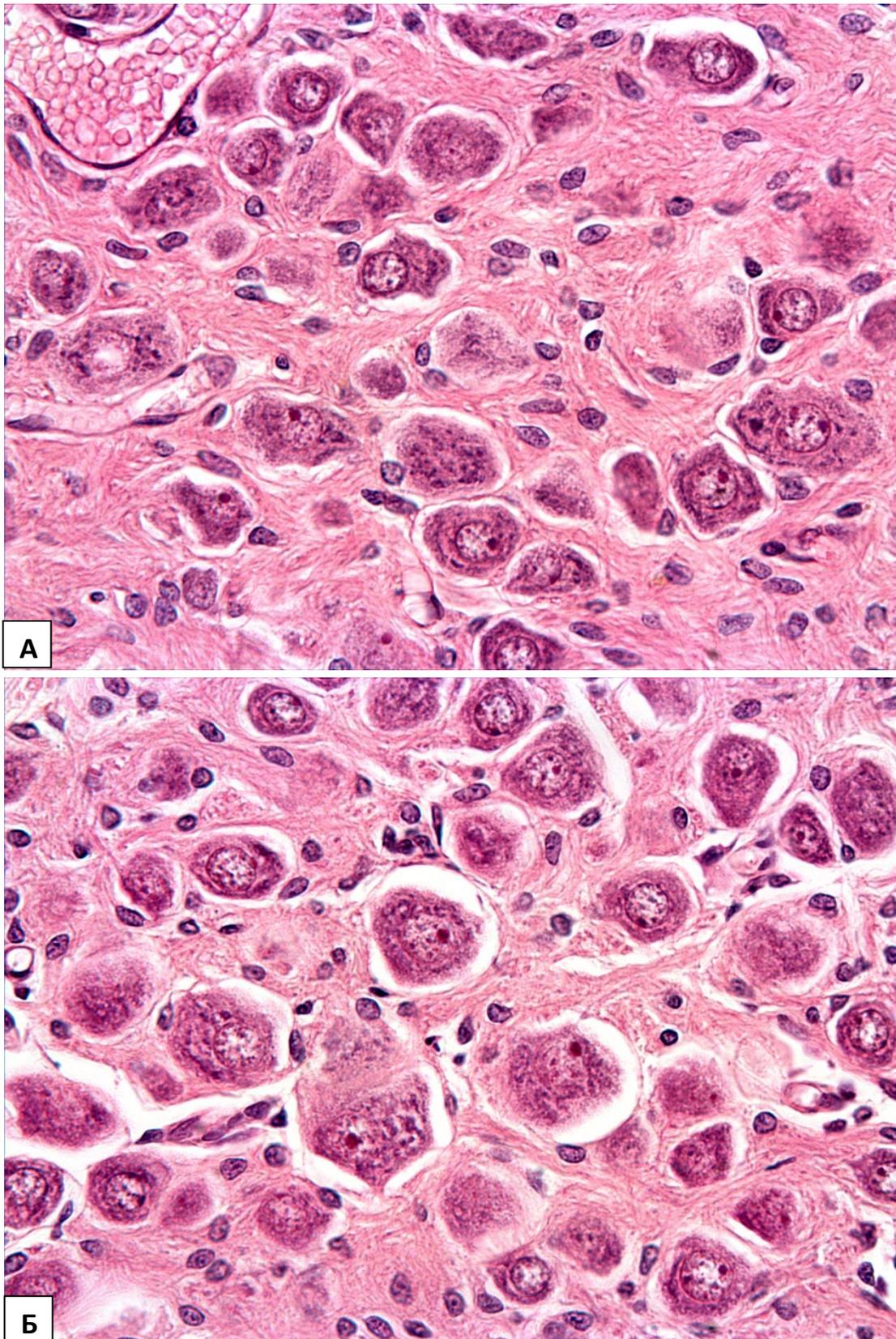


Рис. 20. Верхний шейный ганглий крысы, фиксированный в жидкости Карнуа (А), в спирте (Б). Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 400х

*Иммуногистохимическое исследование*

На первый взгляд, на фиксированных в жидкости Карнуа и спирте органах иммуногистохимические реакции с антителами к bIII-тубулину (Рис. 21 А, Б), PGP9.5 (Рис. 21 В, Г), тирозингидроксилазе (Рис. 22 А, Б) и синаптофизину (Рис. 22 В, Г) выглядели аналогично реакциям на органах, фиксированных в нейтральном забуференном формалине. Однако контроль с заменой первичных антител фосфатным буфером показал наличие сильно выраженного фонового окрашивания цитоплазмы клеток I типа, более сильного в случае фиксации в жидкости Карнуа (Рис. 24 В, Г).

Остальные маркёры показали неудовлетворительные результаты при использовании обоих фиксаторов. Реакция с антителами к S100 неспецифично окрашивала цитоплазму клеток I типа, что не позволяло отличить их от шванновских клеток и клеток II типа (Рис. 23 А, Б). Нейрофиламенты в случае с фиксацией в жидкости Карнуа также давали сильное фоновое окрашивание цитоплазмы клеток I типа, однако реакция в самих нервных волокнах была более выражена, поэтому последние выявлялись относительно отчётливо (Рис. 23В). В случае со спиртовой фиксацией нейрофиламенты показали только неспецифическое фоновое окрашивание (Рис. 23Г).

При фиксации ткани каротидного клубочка в жидкости Карнуа и в спирте антитела к GFAP показали даже более выраженное неспецифическое окрашивание цитоплазмы клеток I типа, чем антитела к S100 (Рис. 24 А, Б).

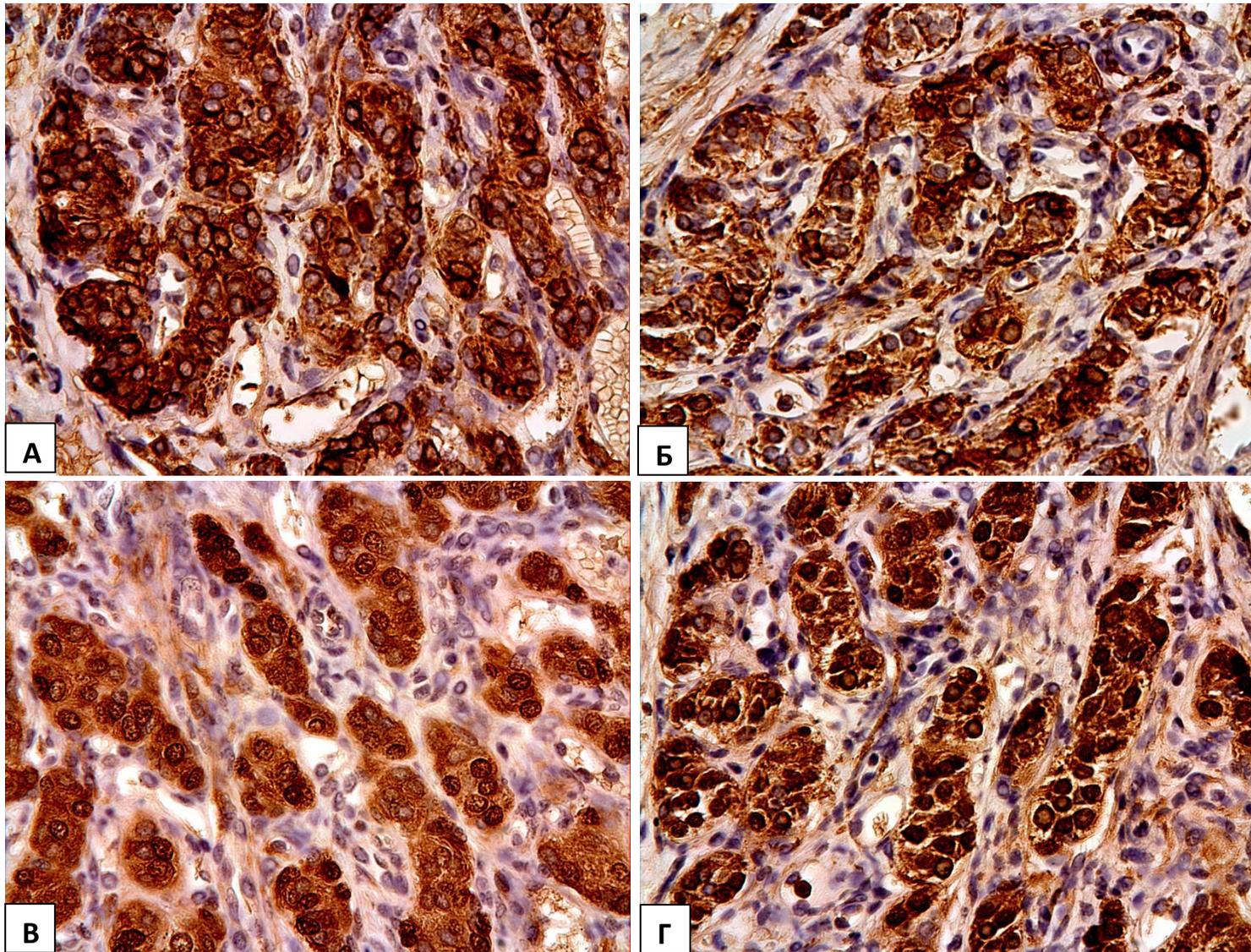


Рис. 21. Иммуногистохимическая реакция на vIII-тубулин фиксация в жидкости Карнуа (А) и спирте (Б); на PGP9.5 фиксация в жидкости Карнуа (B) и спирте (Г). Увеличение 400х

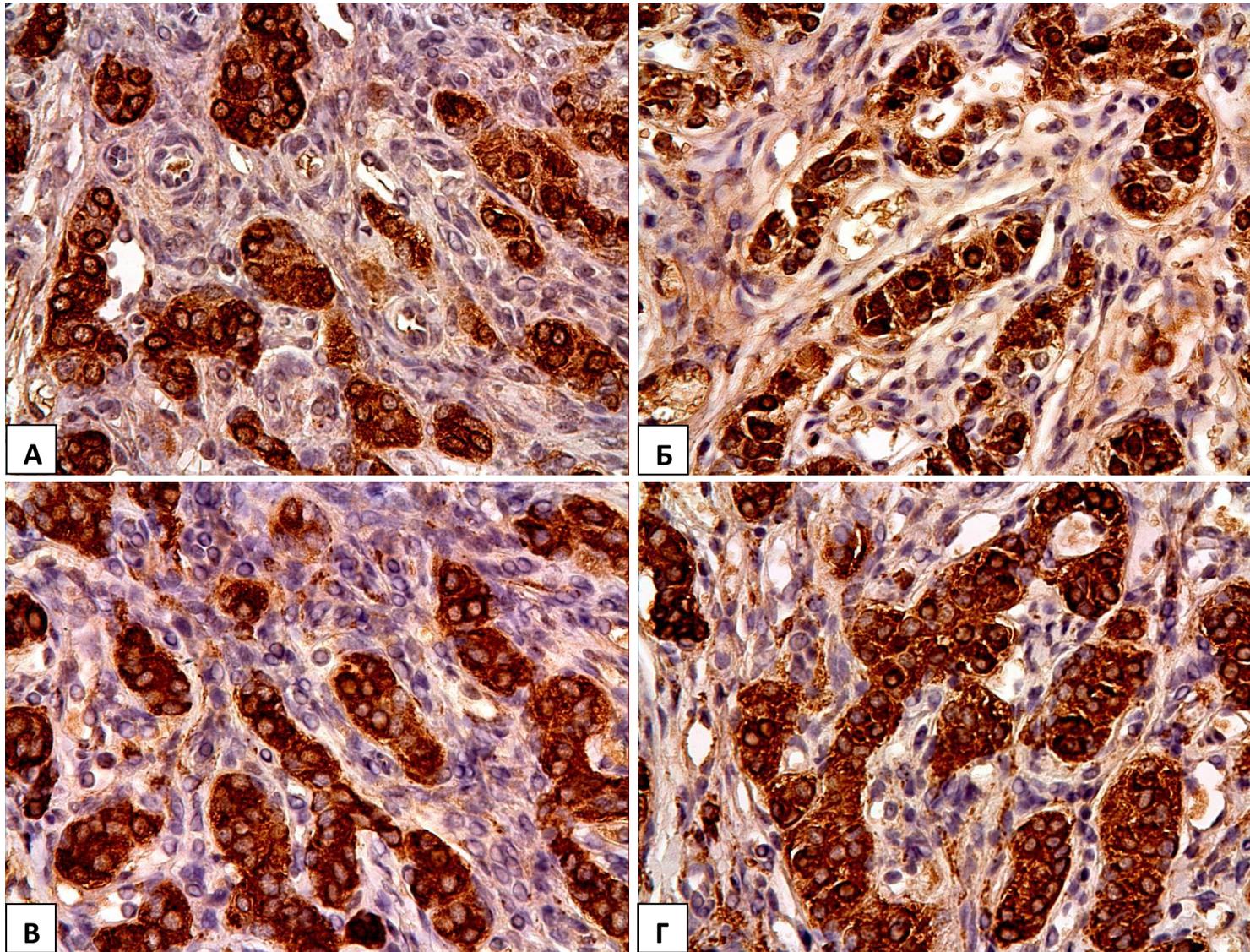


Рис. 22. Иммуногистохимическая реакция на тирозингидроксилазу фиксации в жидкости Карнуа (А) и спирте (Б); на синаптофизин фиксации в жидкости Карнуа (В) и спирте (Г). Увеличение 400х

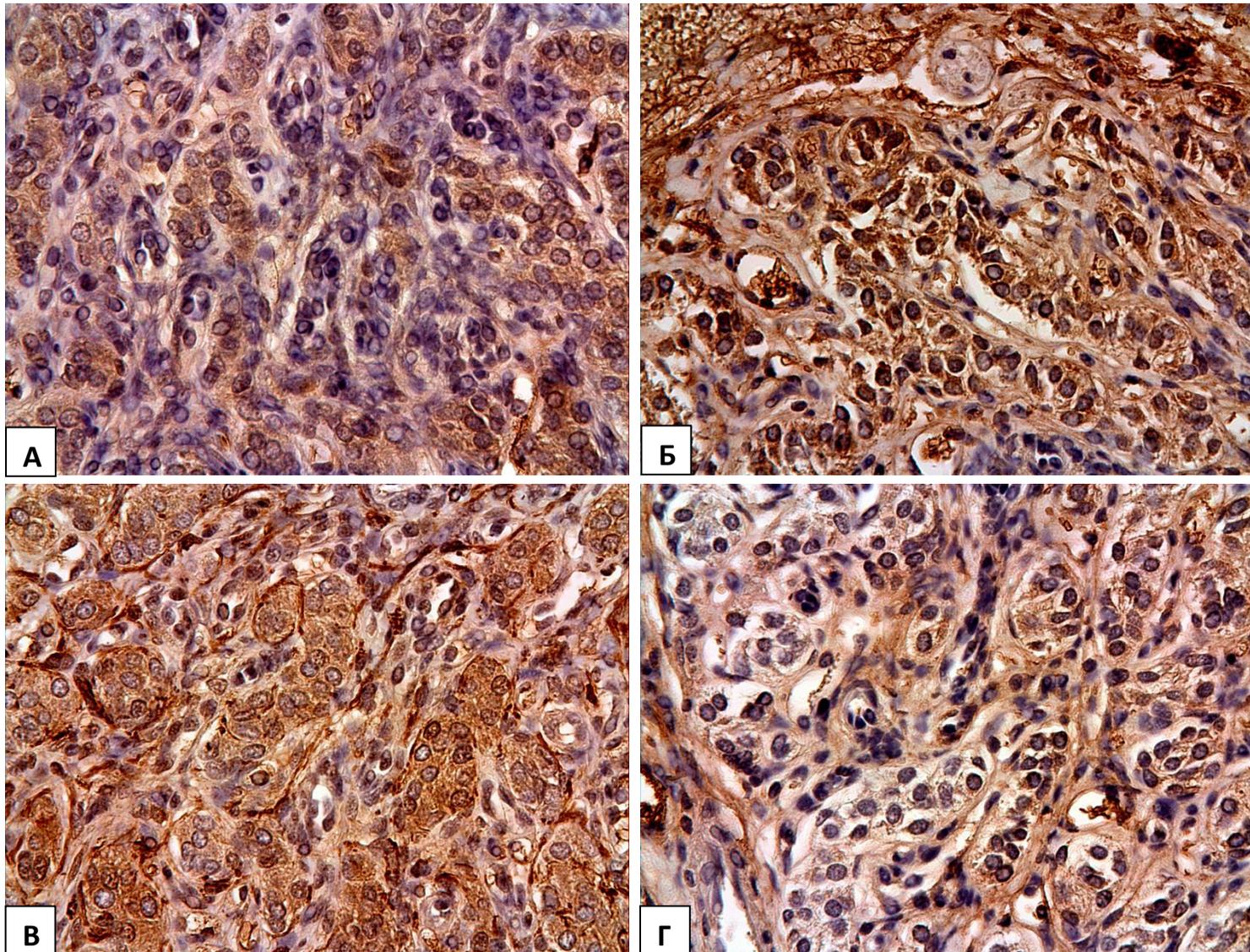


Рис. 23. Иммуногистохимическая реакция на S100 фиксация в жидкости Карнуа (А) и спирте (Б); на нейрофиламенты фиксация в жидкости Карнуа (В) и спирте (Г). Увеличение 400х

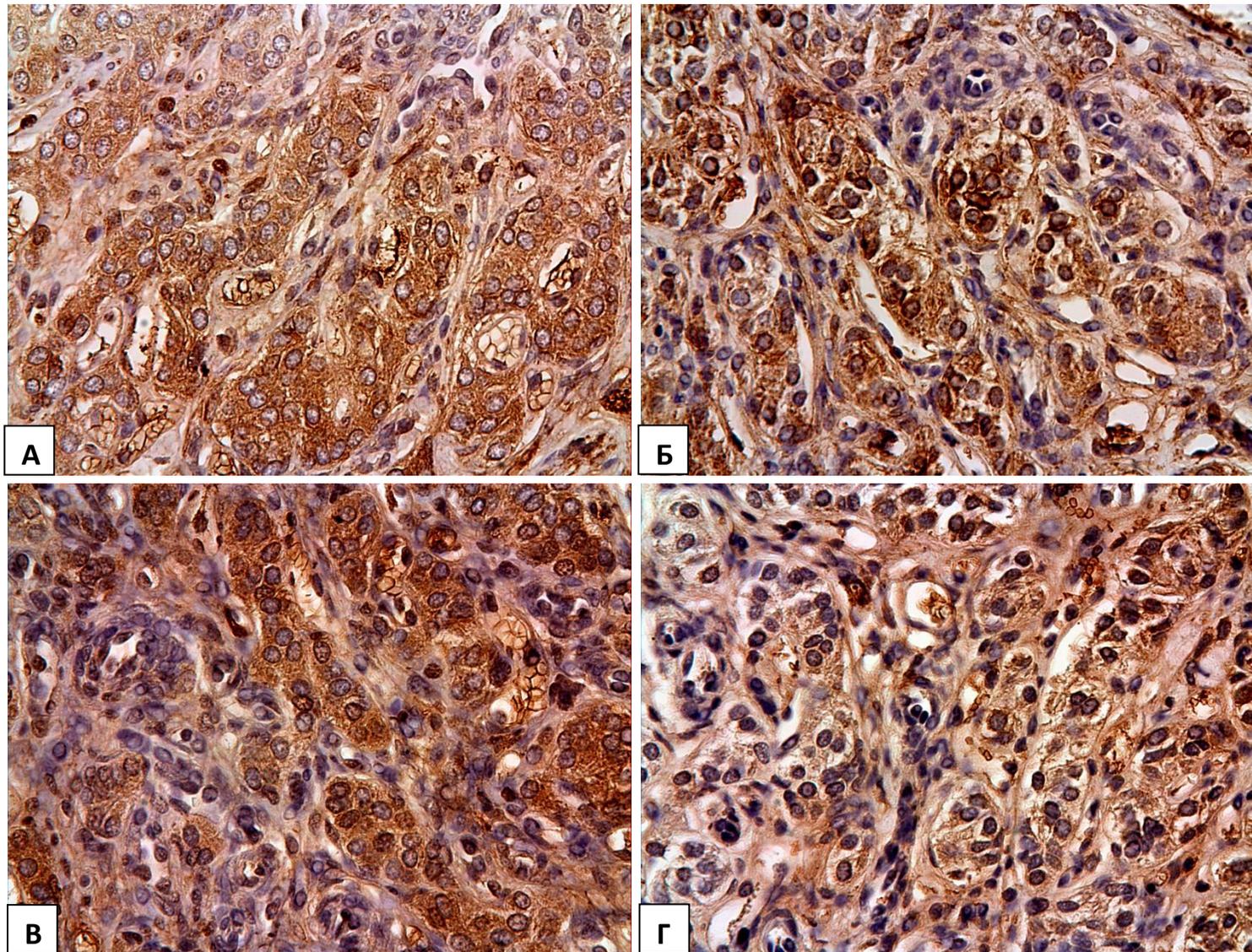


Рис. 24. Иммуногистохимическая реакция на GFAP фиксации в жидкости Карнуа (А) и спирте (Б); замена первичный антител на буферный раствор (контроль) фиксации в жидкости Карнуа (В) и спирте (Г). Увеличение 400х

### **3.3. Сравнение организации каротидного клубочка, органа Цукеркандля и мозгового вещества надпочечника в антенатальном периоде развития человека**

Каротидные клубочки, органы Цукеркандля и мозговое вещество надпочечников были изучены у эмбриона №1 и плодов №2-5 (Таблица 3).

*Эмбрион №1 (8 недель п.о.)*

Каротидные клубочки эмбриона представляли собой небольшое скопление двух типов клеток в области бифуркации общей сонной артерии. Первый тип представлял собой мономорфные клетки с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением. Они имели большие круглые или овальные ядра с нежным хроматином, иногда в них отмечались 1-2 ядрышка. Эти клетки с большой долей вероятности можно отнести к незрелым клеткам I типа. Они формировали гнёзда, или гломерулы, окружённые тонкими отростками вытянутых клеток, вероятно, предшественников клеток II типа. Каждая гломерула состояла из 4-11 клеток (Рис. 25А).

Гломерулы каротидного клубочка располагались в мезенхиме между внутренней и наружной сонными артериями, а в некоторых местах они тесно прилежали к самой меди артерий.

Вокруг органа не обнаруживалось никакой соединительнотканной капсулы, лишь в некоторых участках вокруг органа определялись вытянутые мезенхимальные клетки.

Орган Цукеркандля у эмбриона был хорошо развит и состоял из относительно крупных долек. Каждая долька была отделена от других тонкими мезенхимальными перегородками и представлена скоплением мономорфных клеток с большим ядерно-цитоплазматическим отношением. При более тщательном исследовании видно, что клетки, в свою очередь, формируют внутри долек достаточно крупные гнёзда. Эти гнёзда были крупнее, чем гломерулы в каротидном клубочке. Но так как каждое гнездо отделялось от другой очень тонкими отростками вытянутых клеток, границы между ними были не так заметны. Каждое гнездо состояло из 25-60 клеток. Однако вполне вероятно, что гнёзда были

меньших размеров, так как границы между ними на светооптическом уровне были нечёткими, из-за чего несколько отдельных гнёзд могли быть приняты за одно (Рис. 25Б).

Мозговое вещество надпочечника при стандартной окраске гематоксилином и эозином у эмбриона не определялось (Рис. 26).

*Плоды №2-5 (10 недель п.о. – 20 недель п.м.)*

Каротидные клубочки плодов №2-5 были более зрелыми, чем в предыдущем случае. Клетки I типа у плода №2 имели больший по сравнению с эмбрионом №1 ободок слабо эозинофильной цитоплазмы вокруг ядер (Рис. 27), а клетки I типа плодов №3-5 имели уже более эозинофильную цитоплазму (Рис. 28). Каротидный клубочек плода №2 имел гломерулы со слабовыраженными границами в виде тонких прослоек отростков клеток II типа (Рис. 27). Более крупных долек, которые у взрослых формируют гломерулы, не обнаруживалось. В клубочках плодов №3-5 гломерулы имели более выраженные границы, отростки клеток II типа были толще. В клубочке плода №3 отмечалось образование долек, формируемых гломерулами (Рис. 28А). Хорошо выраженные дольки обнаруживались у плодов № 4 и 5 (Рис. 28Б). Между гломерулами и дольками было заметно наличие тонкостенных капилляров, заполненных эритроцитами. Вокруг органа отмечалось формирование коллагеновых волокон, окружающих орган по периферии, но не образующих отдельную капсулу.

Орган Цукеркандля плода №2 в отличие от эмбриона №1 был представлен более крупными клетками со светлой пенистой цитоплазмой, но в целом имел схожее строение (Рис. 29). Органы Цукеркандля плодов №3-5 имели вид зрелого эндокринного органа. Группы клеток со светлой слабо эозинофильной пенистой цитоплазмой и овальными или округлыми ядрами были собраны в гнёзда по 15-30 штук. Гнёзда были отделены друг от друга отростками клеток II типа. Между гнёздами отмечалось большое количество тонкостенных капилляров (Рис. 30). Однако первоначальное дольчатое строение, наблюдавшееся у эмбриона №1 и плода №2, у плодов на данном этапе внутриутробного развития не было выражено.

Мозговое вещество надпочечника плодов №2-5 было представлено мелкими скоплениями двух типов клеток, разбросанными посреди вещества фетальной коры. Большая их часть представлена незрелыми клетками с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением, меньшая – более зрелыми клетками с пенистой цитоплазмой, напоминающими клетки органа Цукеркандля (Рис. 31).

#### *Иммуногистохимическое исследование*

Во всех исследованных образцах каротидного клубочка, органа Цукеркандля и мозгового вещества надпочечника клетки I типа были положительны на вIII-тубулин и тирозингидроксилазу (Рис. 32, 33). Реакция на синаптофизин и PGP9.5 обнаруживалась лишь у плодов №4 и 5. На S100, GFAP и нейрофиламенты реакция была очень слабой либо отсутствовала.

Во всех исследованных каротидных клубочках обнаружено очень высокое отношение ТН/вIII, приближающееся к единице (Таблица 7, Рис. 34). Однако в органе Цукеркандля во всех случаях отношение ТН/вIII оказалось значительно выше, чем в каротидном клубочке. Еще большее отношение ТН/вIII обнаружилось в надпочечниках плодов на сроках от 10 недель п.о. до 20 недель п.м. Тем не менее, в надпочечнике эмбриона на сроке 8 недель показатель отношения был даже ниже, чем в каротидном клубочке. Выявлялись лишь единичные позитивные к тирозингидроксилазе и вIII-тубулину клетки, что связано с тем, что мозговое вещество надпочечников на данном сроке ещё не развито.

Таблица 7

Отношение ТН/вIII в каротидном клубочке, органе Цукеркандля и мозговом веществе надпочечника

Номер\орган	Каротидный клубочек	Орган Цукеркандля	Мозговое вещество надпочечника
1.	Левый 0,900731; правый 0,924528	0,930889	0,566156
2.	0,885407	3,182126	6,606656
3.	0,807854	1,071944	2,226879
4.	0,881466	1,859665	1,483219
5.	0,92536	1,224923	1,725083

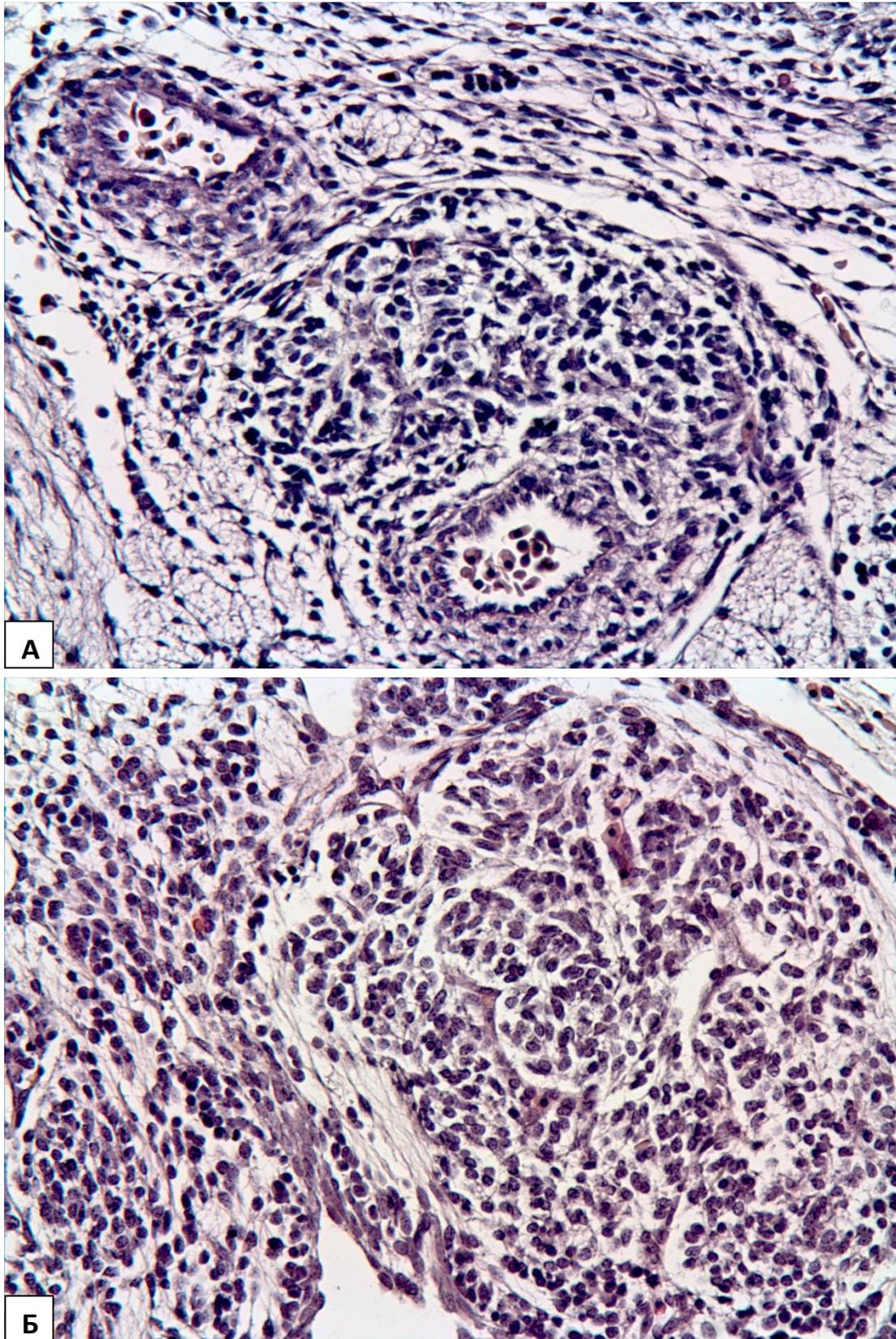


Рис. 25. Каротидный клубочек (А) и орган Цукеркандля (Б) 8-ми недельного эмбриона. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х

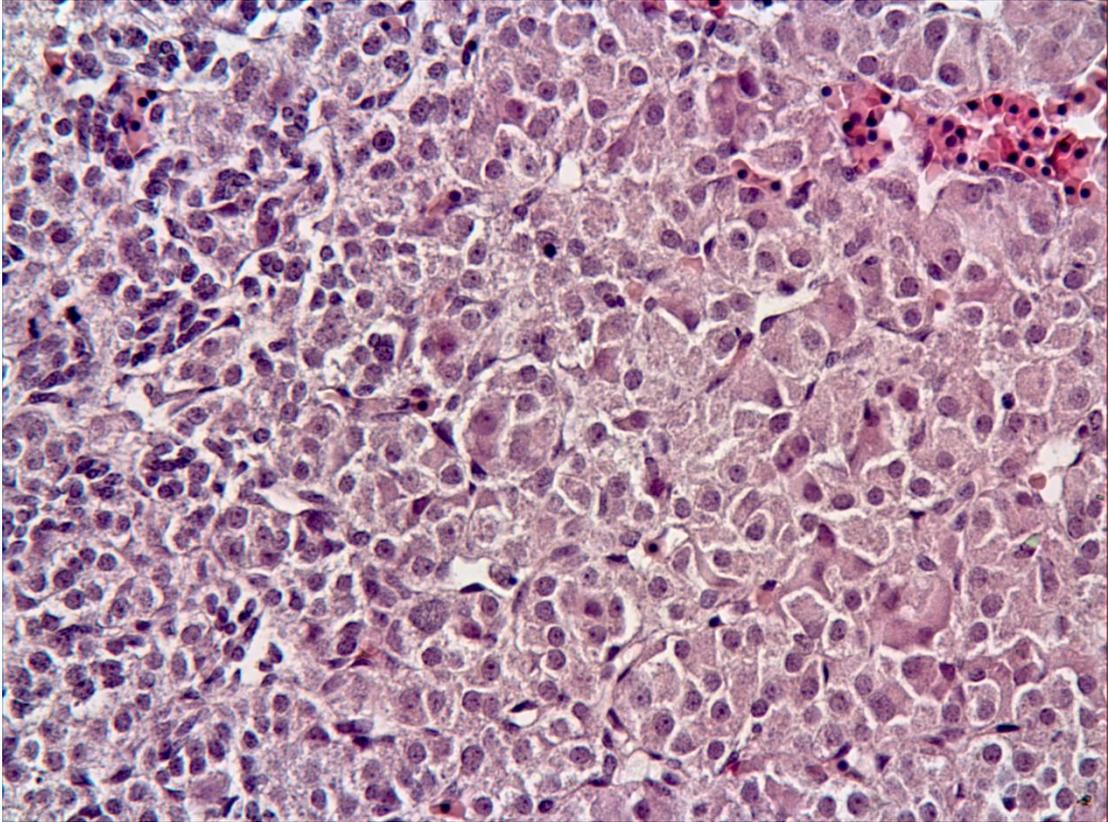


Рис. 26. Надпочечник 8-ми недельного эмбриона. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х

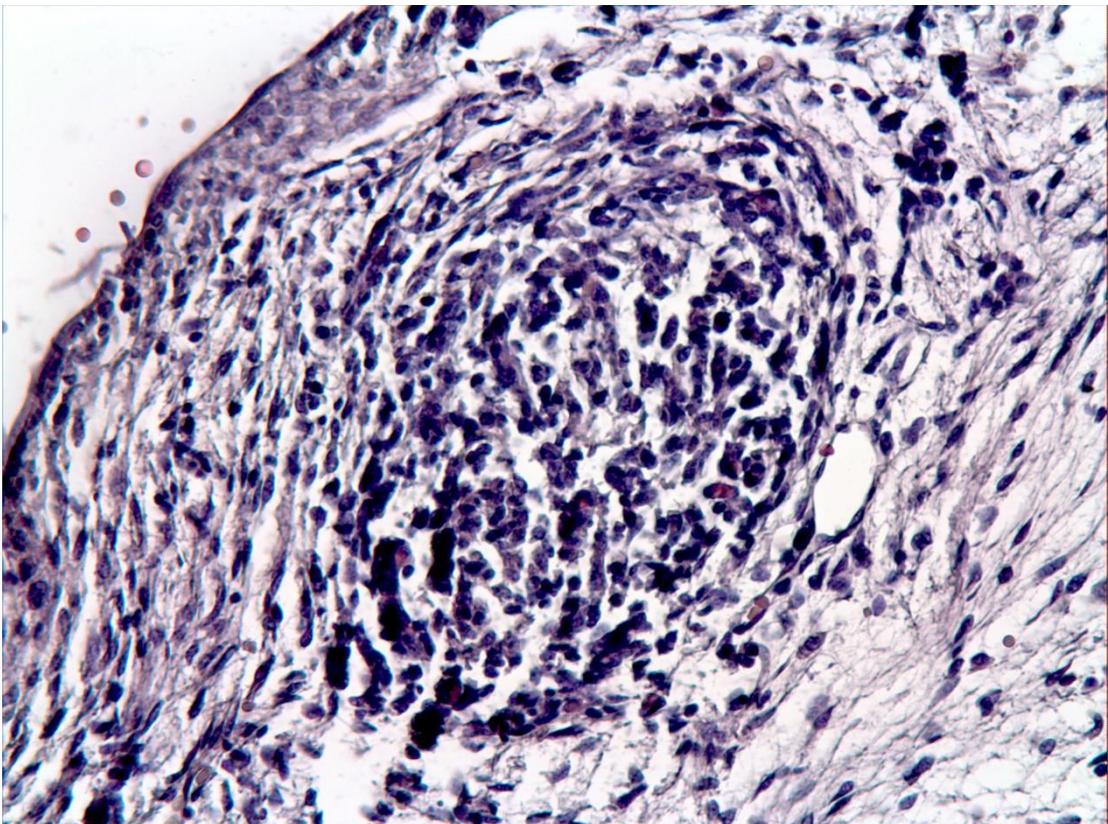


Рис. 27. Каротидный клубочек 10-ти недельного плода. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х

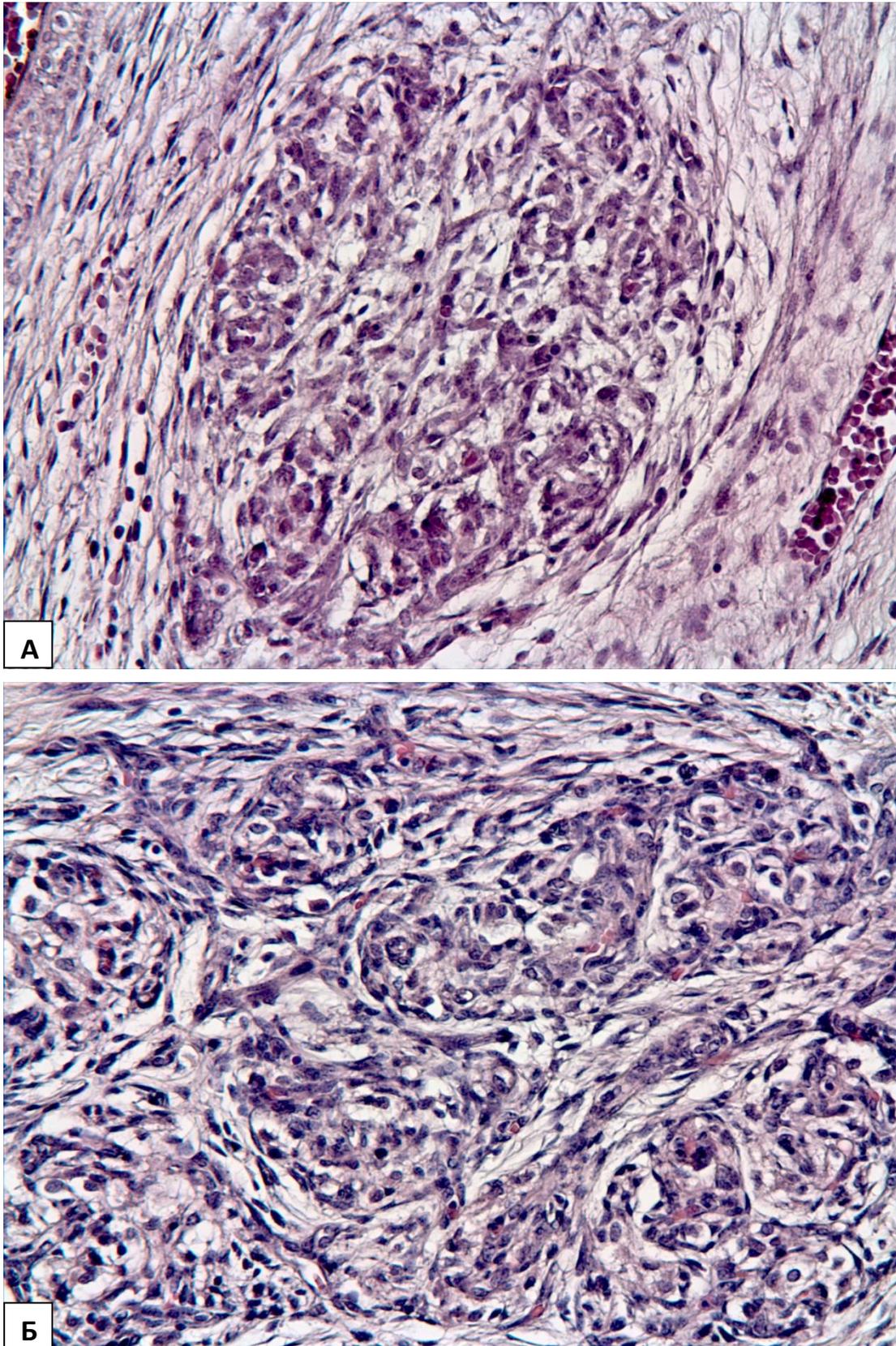


Рис. 28. Каротидный клубочек на 13-14 неделе гестации (А), на 19-20 неделе гестации (Б). Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х

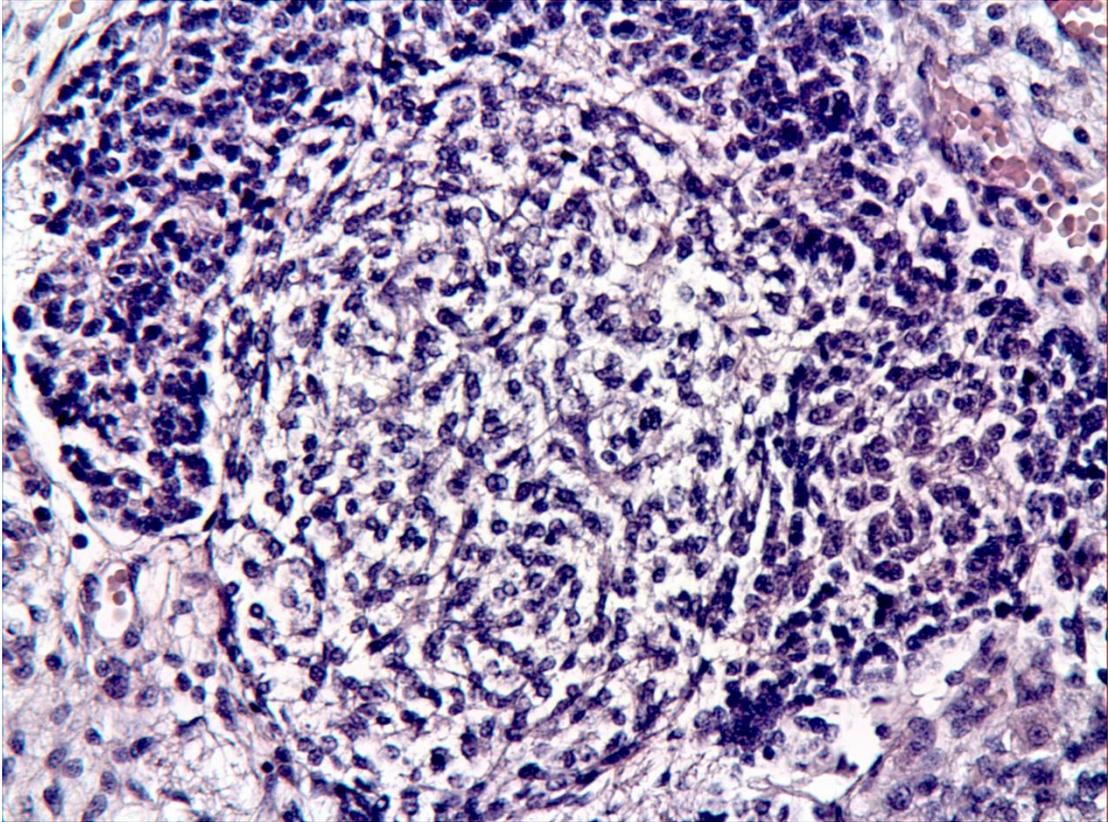


Рис. 29. Орган Цукеркандля 10-ти недельного плода. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х

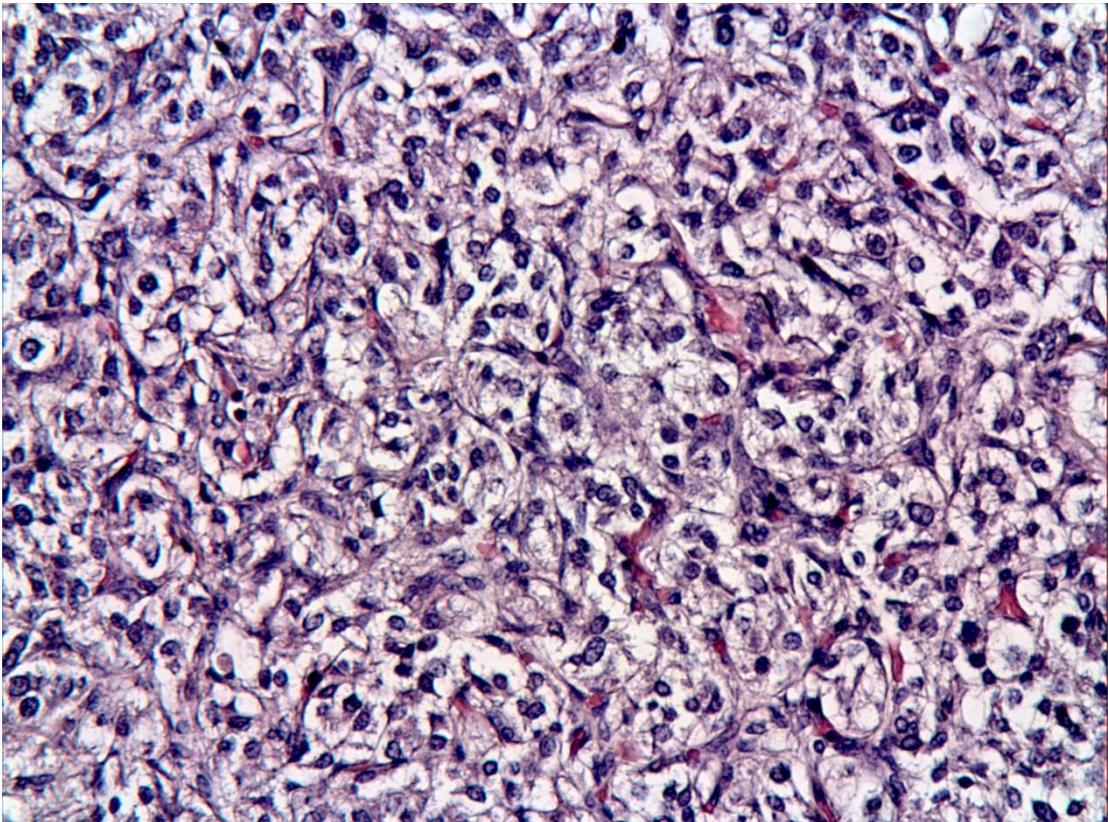


Рис. 30. Орган Цукеркандля плода на 19-20 неделе гестации. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х

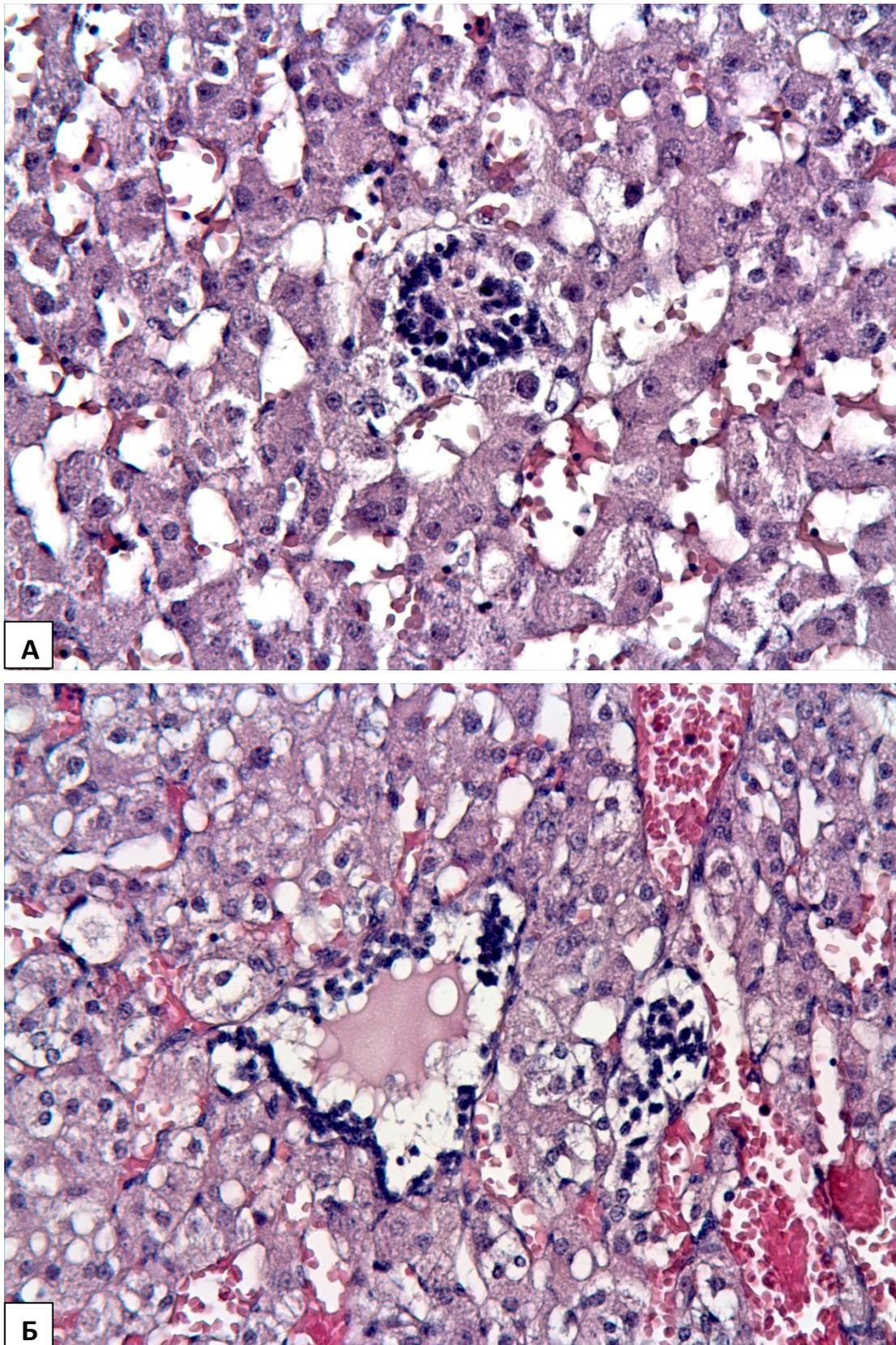


Рис. 31. Группы хромаффинных клеток незрелого мозгового вещества надпочечника на 10 неделе п.о. (А) и 19-20 неделе гестации (Б). Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х

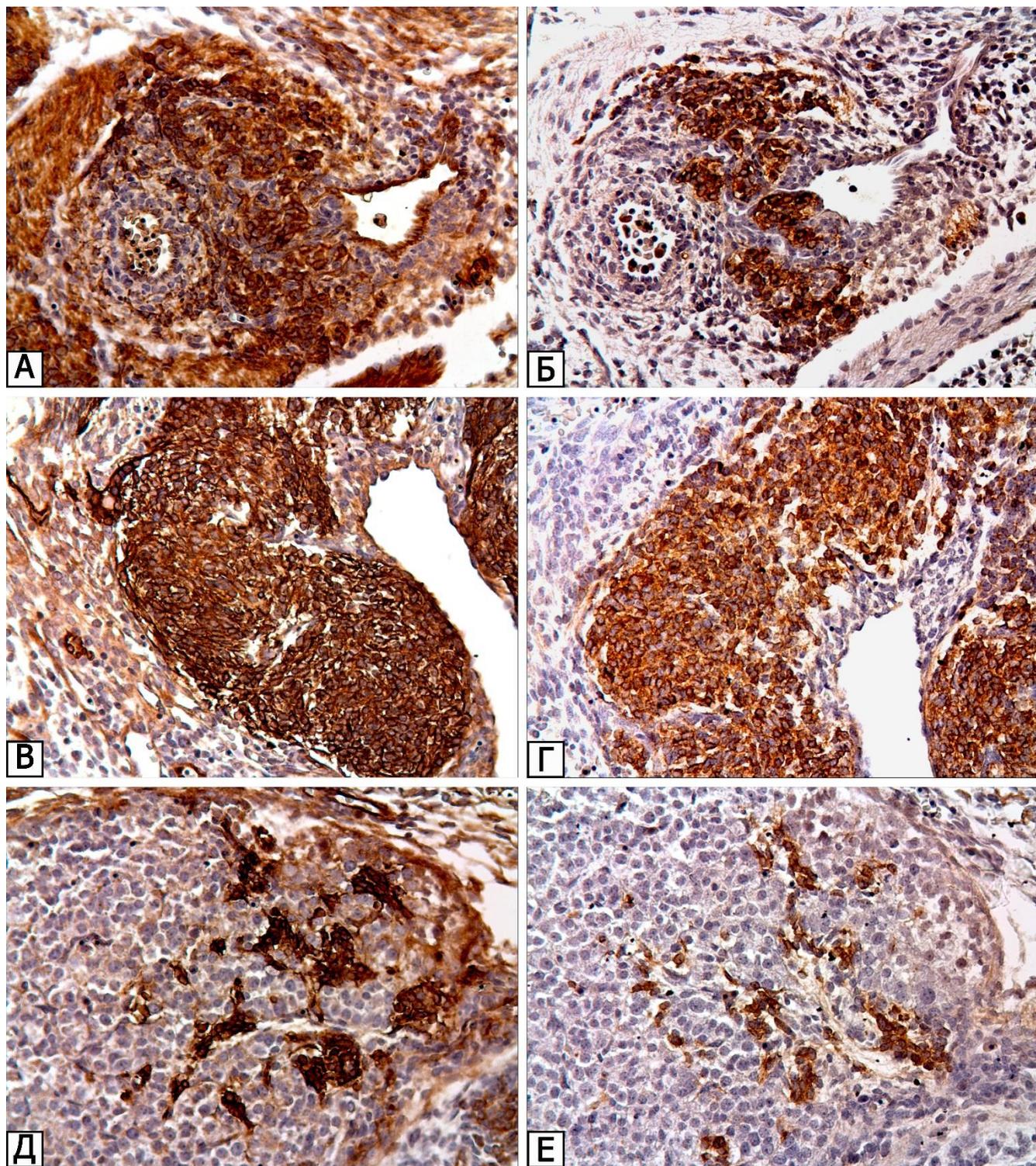


Рис. 32. Каротидный клубочек (А – vIII-тубулин, Б – тирозингидроксилаза), орган Цукеркандля (В – vIII-тубулин, Г – тирозингидроксилаза) и надпочечник (Д – vIII-тубулин, Е – тирозингидроксилаза) эмбриона сроком 8 недель п.о., увеличение 200х

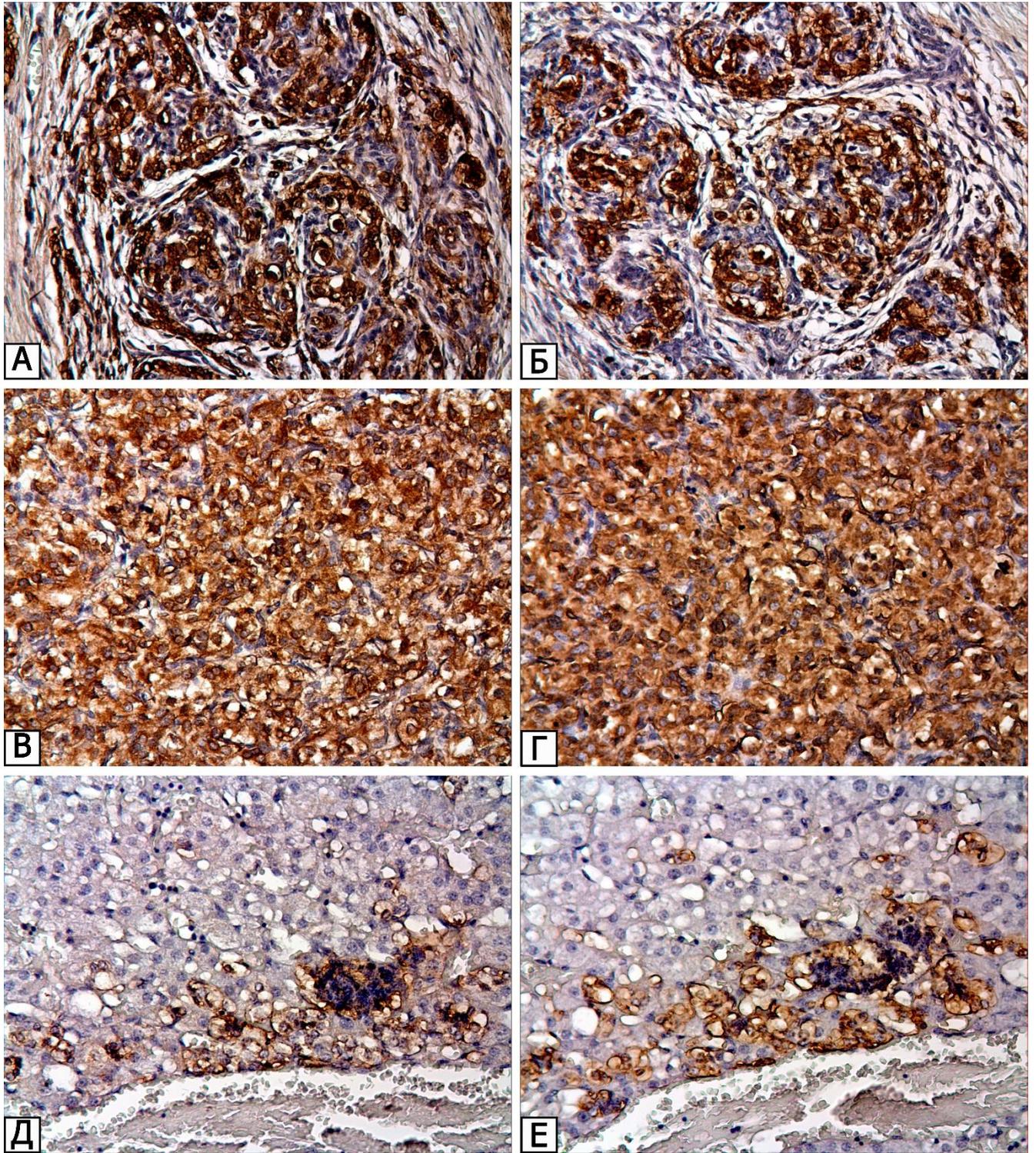


Рис. 33. Каротидный клубочек (А – вIII-тубулин, Б – тирозингидроксилаза), орган Цукеркандля (В – вIII-тубулин, Г – тирозингидроксилаза) и надпочечник (Д – вIII-тубулин, Е – тирозингидроксилаза) плода сроком 19-20 недель, увеличение 200х

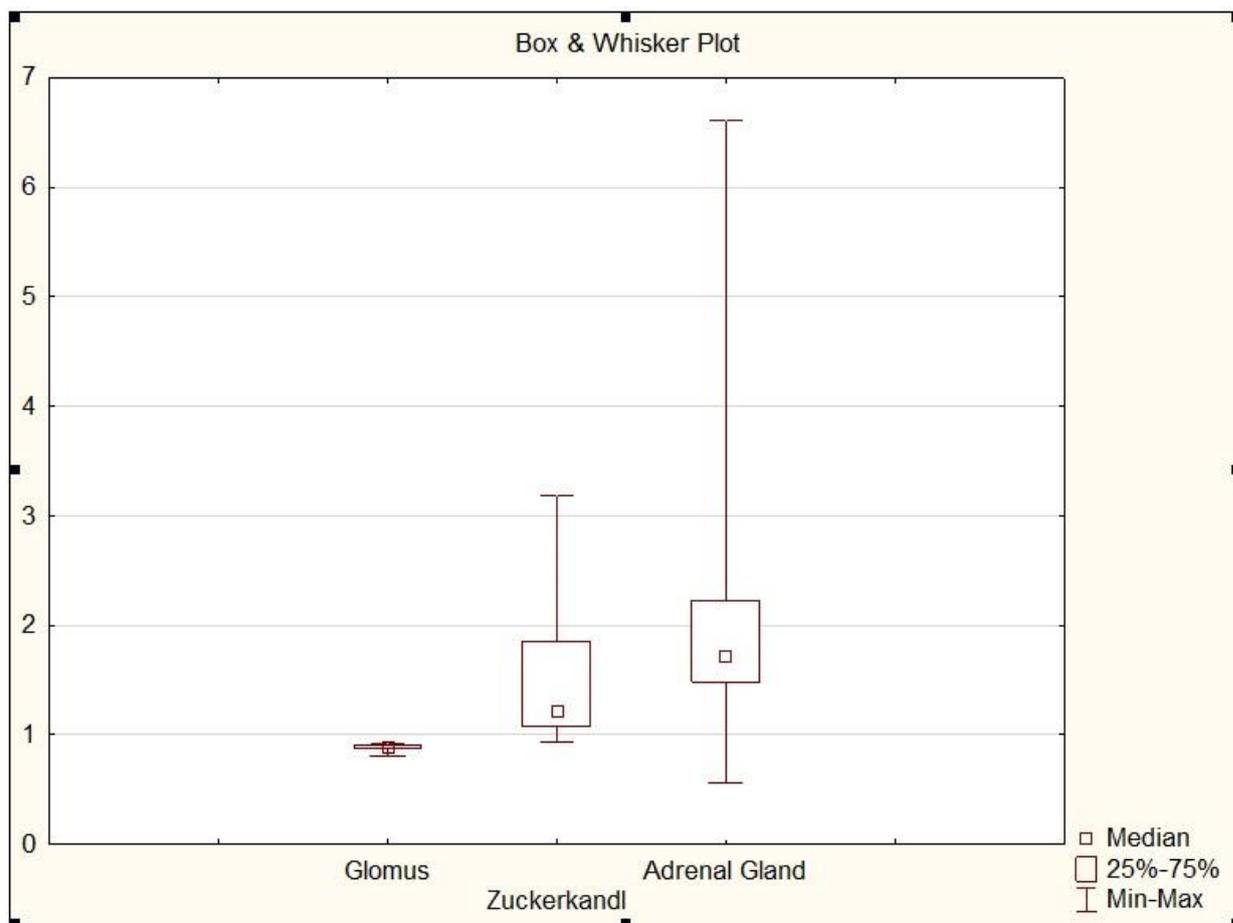


Рис. 34. Отношение TH/bIII в каротидном клубочке, органе Цукеркандля и мозговом веществе надпочечника

### **3.4. Сравнение структуры каротидного клубочка человека в антенатальном и постнатальном периодах развития**

Как было сказано выше (пункт 3.1), эксперимент на крысах выявил ряд нестабильных к аутолизу маркёров (нейрофиламенты и GFAP). Изучение внутриутробного материала показало, что помимо данных маркёров нестабильно работают следующие: PGP9.5, синаптофизин и S100. Однако на взрослом материале они показали стабильный результат. В связи с чем при сравнении со взрослыми каротидными клубочками использовали лишь маркёры к  $\beta$ III-тубулину и тирозингидроксилазе.

#### ***3.4.1. Гистологическая организация каротидного клубочка во внутриутробном периоде***

Во всех исследованных образцах орган располагался в области бифуркации общей сонной артерии. У эмбриона №1 максимальная площадь поперечного среза левого каротидного клубочка была в 6,7 раза больше, чем площадь поперечного сечения левой внутренней сонной артерии, а площадь поперечного среза правого каротидного клубочка – в 7,1 раза больше площади поперечного сечения правой внутренней сонной артерии. Если брать отношения наибольших размеров органа к диаметру внутренней сонной артерии, то размер левого клубочка был в 3,3 раза больше диаметра левой внутренней сонной артерии, а правого – в 4,04 раза больше диаметра правой внутренней сонной артерии.

У плода №2 наибольший размер органа был в 1,86 раза больше диаметра внутренней сонной артерии. У остальных обследованных плодов не было возможности напрямую сопоставить размеры каротидного клубочка с диаметром внутренней сонной артерии, так как направление срезов не всегда соответствовало продольному сечению сосуда или каротидного клубочка. Однако на основании анализа серии срезов можно утверждать, что наибольший поперечный размер каротидного клубочка примерно в 1,1-1,5 раза больше диаметра внутренней сонной артерии.

Вокруг каротидных клубочков эмбриона №1 и плода №2 отмечался лишь тонкий ободок вытянутых мезенхимальных клеток, которые окружали орган по

периметру в 1-3 слоя, однако не наблюдалось формирования соединительнотканной капсулы (Рис. 25А, 27).

Вокруг каротидных клубочков плодов №3-21 также не отмечалось формирования капсулы (Рис. 28А, 35). По периферии органа, вокруг его гломерул, отмечались локальные разрежения соединительнотканной ткани. Последняя состояла из редких коллагеновых волокон и веретеновидных фибробластоподобных клеток. Снаружи отмечалось скопление более плотных коллагеновых волокон, лежащих в несколько слоёв, и наличие большого количества веретеновидных фибробластоподобных клеток. Однако назвать это образование истинной капсулой нельзя, хотя оно и напоминает её по структуре. Она не была непрерывной, местами отмечались участки разрежения коллагеновых волокон. Иногда коллагеновые волокна меняли своё направление и ориентировались не по касательной периметру органа, а перпендикулярно к нему.

На некоторых срезах отмечалось вхождение в орган тонкостенной артериолы диаметром 50-90 мкм (Рис. 36). Вокруг каротидного клубочка также иногда обнаруживались тонкостенные вены, заполненные эритроцитами.

Все исследованные каротидные клубочки состояли из двух типов клеток, организованных по общему плану в гломерулы: группа из 4-15 клеток I типа была окружена по периферии веретеновидными клетками II типа. Однако по мере увеличения срока гестации морфология органа менялась следующим образом. Если у эмбриона №1 клетки первого типа были в основном круглыми или овальными с узким, почти незаметным ободком базофильной цитоплазмы (Рис. 25А), то у плода №2 уже было заметно незначительное увеличение объёма цитоплазмы (Рис. 27). У остальных плодов было отмечено увеличение объёма цитоплазмы, которая к тому же обладала слабовыраженной эозинофилией (Рис. 28). Отмечалась пенистость цитоплазмы и её распад на глыбки, однако, как было выяснено ранее, подобные изменения являются артефактом, вызванным воздействием формалина на ткань.

Наличие «пикнотического субтипа» клеток было отмечено уже в случае №1 (8 неделя п.о.), деление на «тёмный» и «светлый субтипы» клеток наблюдалось

начиная с 18-19 недели развития. Это, как было установлено ранее, являлось ничем иным, как результатом аутолиза.

У эмбриона №1 и плода №2 гломерулы имели слабовыраженные границы, так как отростки клеток II типа были очень тонкими (Рис. 25А, 27). Помимо этого, гломерулы в этих двух случаях не формировали дольки. Хорошо выраженные дольки, состоящие из групп гломерул, отмечались впервые у плода №3 на 13-14 неделе гестации (Рис. 28А). По мере увеличения срока гестации дольки становились всё более выраженными, были окружены веретеновидными клетками по периметру и отделены друг от друга тонкими прослойками разреженной ткани, которая состояла в основном из скопления веретеновидных клеток, вероятно, шванновских клеток и фибробластов (Рис. 28Б).

#### ***3.4.2. Иммуногистохимическое исследование каротидного клубочка во внутриутробном периоде***

Во всех исследованных каротидных клубочках эмбриона и плодов отмечалась позитивная реакция клеток I типа и нервных волокон на вШ-тубулин и тирозингидроксилазу (Рис. 32А,Б, 33А,Б). Отчётливая позитивная реакция на синаптофизин и PGP9.5 обнаружилась в клетках I типа плодов №4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 19, 20, 21 (Рис. 37 А, Б). Также в этих случаях отмечалась позитивная реакция на PGP9.5 в нервных волокнах (Рис. 37А). У плодов №6, 8, 9 помимо PGP9.5 нервные волокна были позитивны на нейрофиламенты (Рис. 37В). У плодов №8, 9, 19, 20 отмечалась позитивная реакция шванновских клеток оболочек нервов и клеток II типа на GFAP (Рис. 37Г). В случае №7, 19, 20 шванновские клетки оболочек нервов и клетки II типа показывали позитивную реакцию на S100 (Рис. 37Д).

Из приведённых данных видно, что помимо выявленных в эксперименте по аутолизу нестабильных маркёров (GFAP, нейрофиламенты) нестабильно работали в большей степени S100, в меньшей – синаптофизин и PGP9.5. Можно предположить, что в этих случаях помимо аутолиза на результат повлияла фиксация в формалине ненадлежащего качества.

Полученная картина показывает, что уже с 8 недели развития клетки I типа иммунопозитивны на bIII-тубулин и тирозингидроксилазу. При этом во всех случаях отношение ТН/bIII оказалось довольно высоким (медианное значение – 0,8). Минимум 0,51 наблюдался в случае №17, максимум 0,93 в случае №5 и 0,92 в случае №1 (Таблица 8). Связи между сроком гестации и отношением ТН/bIII обнаружено не было.

В случаях №1 и №2 клетки клубочка располагались так плотно, что внутри органа было невозможно проследить ход нервных волокон. С 13-14 недели (плод №3), когда в органе появляются хорошо выраженные дольки, становится возможным проследить ход нервных волокон. Они входят в орган и, проходя по межлобулярному пространству, густой сетью оплетают дольки. При этом в нервных волокнах отмечается позитивная реакция как на bIII-тубулин, так и на тирозингидроксилазу. Однако проследить ход нервов внутри долек было невозможно из-за плотного расположения клеток I типа.

Таблица 8

Отношение ТН/bIII в каротидном клубочке плодов

Номер плода	Соотношение ТН/bIII	Номер плода	Соотношение ТН/bIII
1л.*	0,900731	11п.**	0,727811
1п.*	0,924528	12.	0,70254
2.	0,885407	13.	0,854295
3.	0,807854	14.	0,624743
4.	0,881466	15.	0,535936
5.	0,92536	16.	0,646983
6.	0,732308	17.	0,507709
7.	0,804473	18.	0,691227
8.	0,771863	19.	0,892741
9.	0,833736	20.	0,845743
10.	0,518871	21.	0,910662
11л.**	0,70143		

\* – 1л и 1п левый и правый каротидные клубочки эмбриона №1

\*\* – 11л и 11п левый и правый каротидные клубочки плода №11

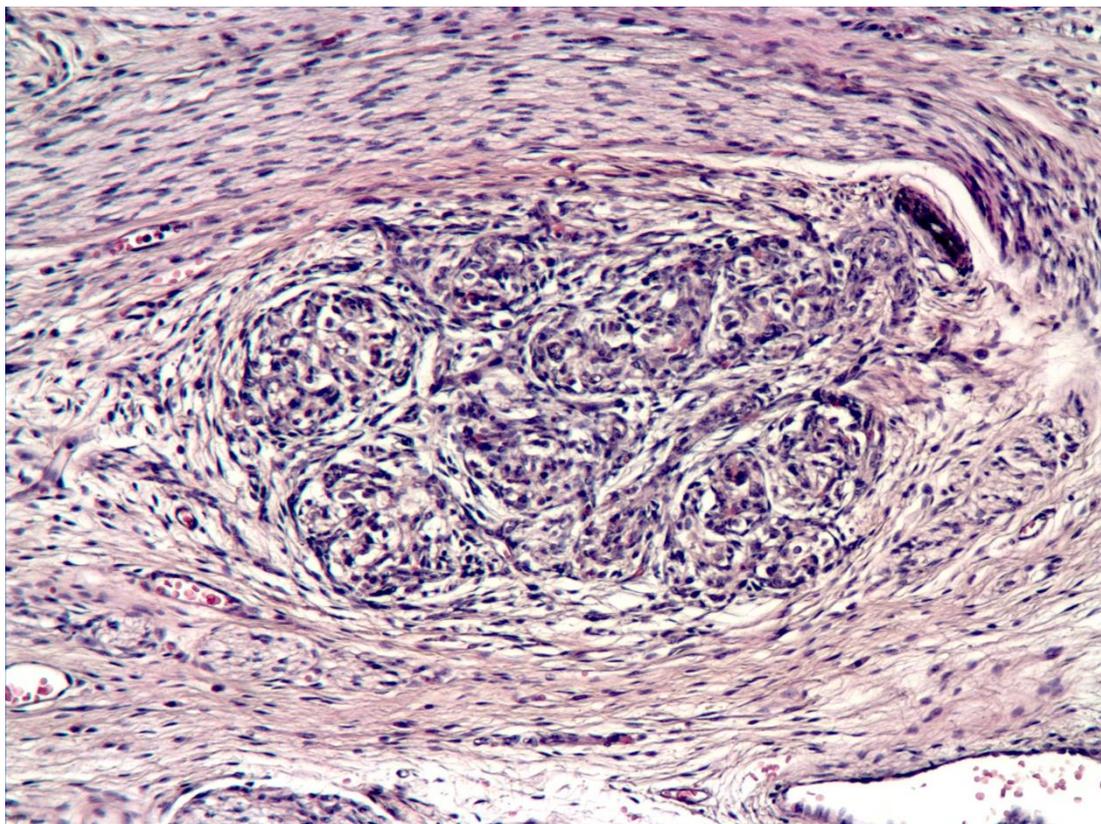


Рис. 35. Каротидный клубочек на 19-20 неделе гестации. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 100х

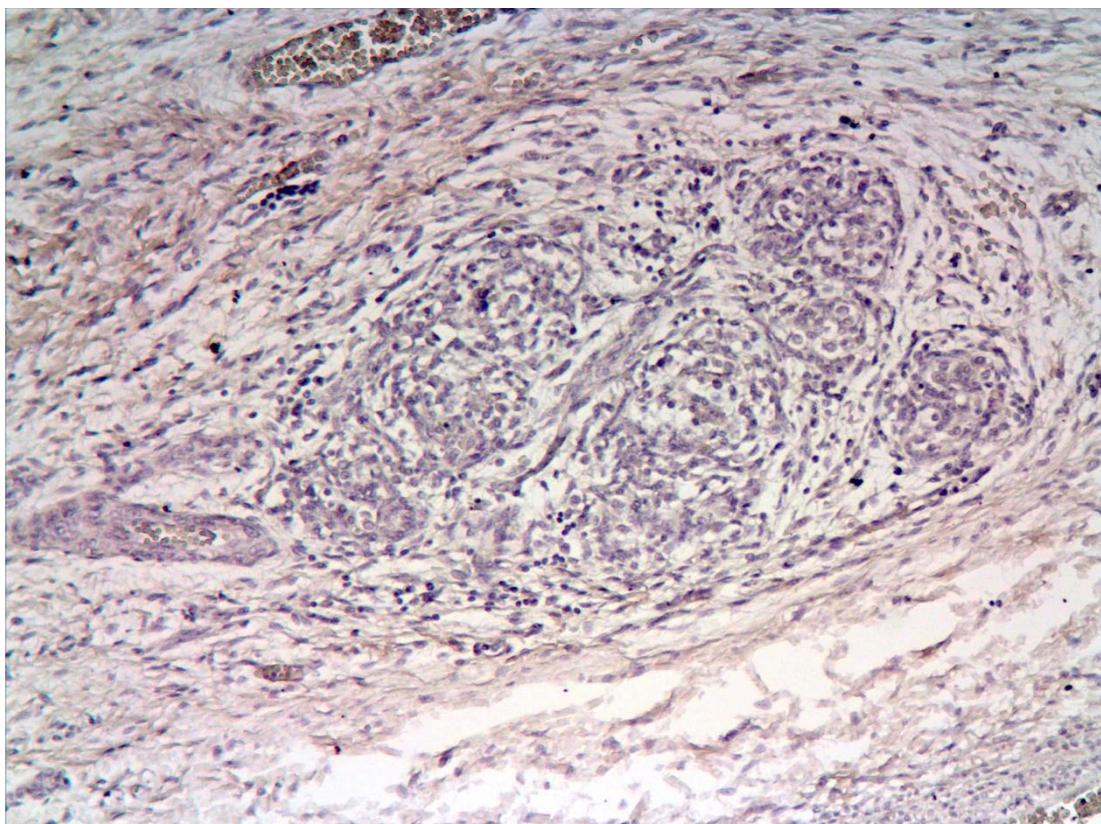


Рис. 36. Каротидный клубочек на 15-16 неделе гестации. Слева к органу подходит гломусная артерия. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 100х

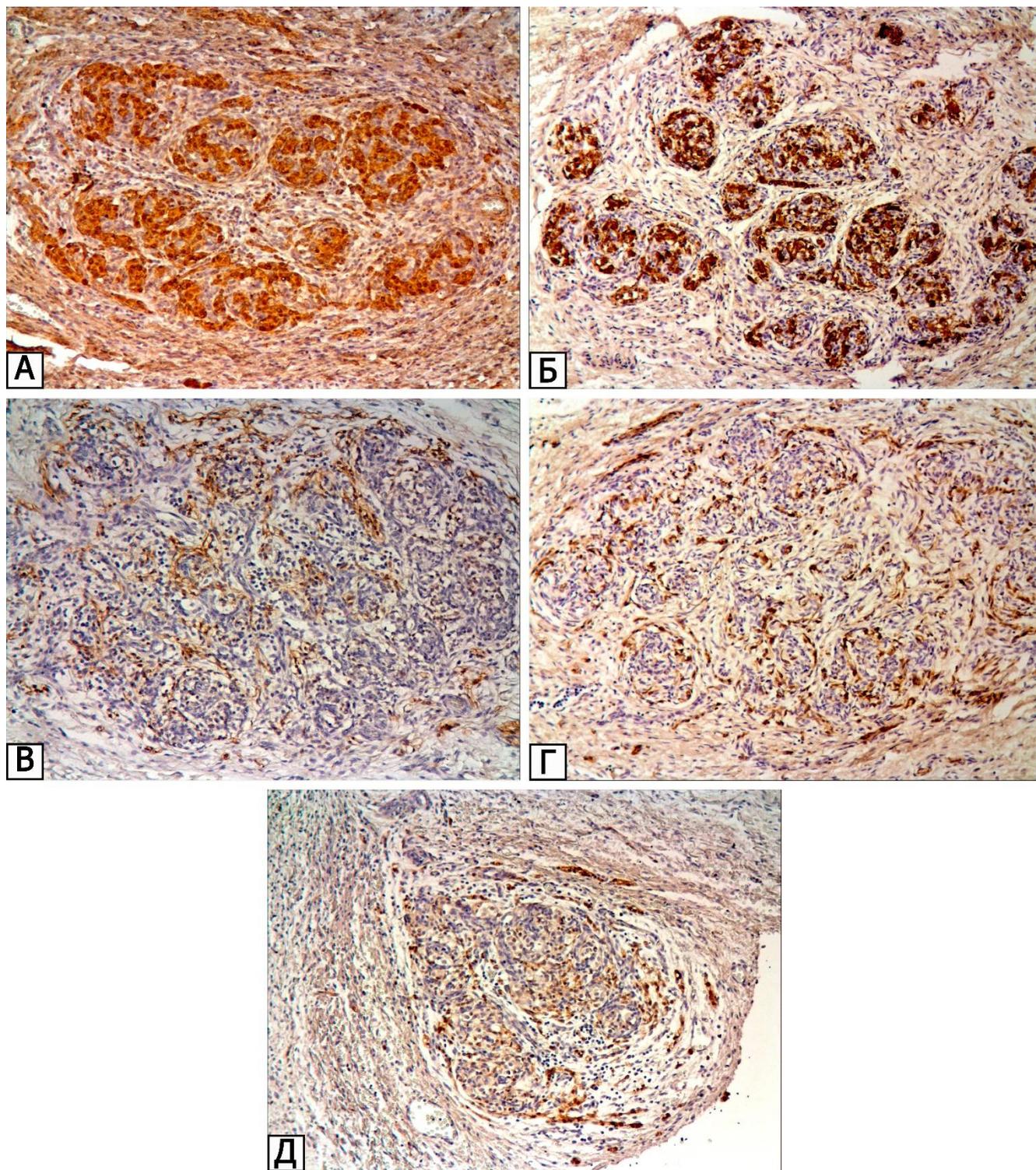


Рис. 37. Иммуногистохимическая реакция на PGP9.5 (А), синаптофизин (Б), нейрофиламенты (В), GFAP (Г), S100 (Д).

А – 21 неделя гестации; Б и Г – 30 неделя гестации; В – 21-22 неделя гестации; Д – 16 неделя гестации.

Увеличение 100х

### ***3.4.3. Гистологическая организация каротидного клубочка взрослых людей***

Каротидные клубочки взрослых людей располагались в области бифуркации общей сонной артерии между волокон соединительной ткани. При этом, по сравнению с антенатальным материалом, относительные размеры органов взрослых были значительно меньше. Из-за значительного разрастания соединительной ткани у лиц пожилого возраста невозможно было точно измерить размеры паренхимы органа, так как она была разбросана дискретными порциями между коллагеновых волокон. Но даже с учётом соединительной ткани максимальный поперечный размер каротидного клубочка составлял не больше трети диаметра внутренней сонной артерии (случай №22), в среднем – около четверти её диаметра.

В случае №22 (женщина 24 лет) макроскопически орган представлял собой чётко отграниченный от окружающей его рыхлой соединительной ткани узелок овальной формы. Микроскопически орган был окружён плотной волокнистой соединительной тканью по всему периметру (Рис. 39). На краниальном и каудальном полюсе органа она имела чёткую границу с прослойками жировой ткани. С края, прилежащего к внутренней сонной артерии, плотная волокнистая соединительная ткань незаметно переходила в адвентицию артерии. С противоположного края она имела более отчётливую границу с более рыхлой соединительной тканью. Плотная волокнистая соединительная ткань входила в орган, разделяя его на дольки. В ней отмечалось большое количество кровеносных сосудов и нервов. Дольки были представлены скоплением гломерул, содержащих по 10-20 (в среднем 15) клеток (Рис. 40).

В остальных случаях (№23-34) отмечалось значительное увеличение соединительной ткани, располагающейся в области бифуркации общей сонной артерии. Соединительная ткань сильно разрасталась между долек каротидного клубочка и, по-видимому, вращалась в ранее единые дольки, разделяя их на более мелкие (Рис. 41, 42).

Во всех исследованных случаях клетки I типа имели овальные или округлые ядра, содержали 1-3 ядрышка. Их цитоплазма была светлой эозинофильной, очень часто фрагментированной (артефакт формалиновой фиксации). Отмечалось наличие «трёх субтипов»: светлого, тёмного и пикнотического (артефакт аутолиза) (Рис. 43). Стоит отметить, что из-за наличия этих неизбежных при работе с человеческим материалом артификальных изменений, часть клеток, не являющихся клетками I типа, могла быть ложно принята за них. Особенно это касалось перицитов и шванновских клеток, через которые срез прошёл поперечно.

Клетки II типа имели веретеновидную форму и вытянутые ядра. Они окружали клетки I типа по периферии. Однако из-за большого количества стромальных и шванновских клеток со схожей морфологией, расположенных рядом с гломерулами, отличить эти типы клеток не всегда было возможным. Таким образом, без иммуногистохимии или специальных окрасок не всегда можно чётко дифференцировать клетки I и II типа от иных видов клеток (Рис. 44).

#### ***3.4.4. Иммуногистохимическое исследование каротидного клубочка взрослых людей***

Во всех исследованных образцах каротидного клубочка отмечалась позитивная реакция на все поставленные маркёры, что свидетельствует о меньшем воздействии аутолиза на ткань органа.

Нервные волокна, проходящие между долек, оказались позитивными на bIII-тубулин, тирозингидроксилазу (Рис. 45 В, Г), PGP9.5 и нейрофиламенты (Рис. 46 А, В). Нервные волокна, входящие в сами дольки и гломерулы, также были позитивны на эти маркёры.

Клетки I типа были позитивны на bIII-тубулин (Рис. 45В), PGP9.5 (Рис. 46А) и синаптофизин (Рис. 46Б). Однако, в отличие от антенатального материала, эти клетки показали довольно слабую реакцию на тирозингидроксилазу (Рис. 38, 45Г). Отчётливую реакцию на неё демонстрировали лишь единичные клетки, только в случаях №25 и 30 было отмечено большое количество иммунопозитивных клеток. Отношение ТН/bIII оказалось довольно низким (медианное значение – 0,09).

Минимум 0,01 наблюдался в случае №34, максимум 0,49 в случае №25 (Таблица 9).

Клетки II типа показывали позитивную реакцию на GFAP и S100 (Рис. 46 Г, Д). При этом их практически невозможно было отличить от шванновских клеток, которые при схожей морфологии также демонстрировали позитивную реакцию на эти два маркера.

Очень сложно было проследить ход нервных волокон внутри самих гломерул, так как находящиеся в них клетки также были позитивными на вШ-тубулин, тирозингидроксилазу и PGP9.5. Поэтому представлялось возможным оценить ход нервных волокон, позитивных на нейрофиламенты. Отмечалось, что эти нервные волокна входили в сами гломерулы и формировали промежуточные и концевые утолщения. Эти утолщения образовывали контакты с клетками I типа (Рис. 47А). К сожалению, ограничения метода не позволили обнаружить нервные волокна, слепо заканчивающиеся внутри клеток II типа (см. пункт 1.3.3.4, с. 46).

Помимо утолщений внутри гломерул, часть нервных волокон образовывала утолщения, расположенные рядом со стенкой кровеносных сосудов. Данные утолщения тесно прилежали к их базальной мембране (Рис. 47Б).

Как было сказано выше, значительным отличием каротидного клубочка молодой женщины 24 лет (случай №22) от каротидных клубочков лиц старше 50 лет стало уменьшение паренхимы и разрастание стромы (Рис. 39, 41, 42). Исследование с применением антител к синаптофизину и нейрофиламентам показало, что уменьшение числа клеток I типа не сопровождается уменьшением плотности нервных волокон. При этом их плотность либо не изменяется, либо даже возрастает (Рис. 48). Интересно то, что у большинства больных, согласно анамнезу, не наблюдалось никаких проблем с дыхательной системой, если не считать осложнений в виде пневмонии в терминальном периоде жизни.

Отношение ТН/бШ в каротидном клубочке взрослых людей

Номер аутопсии	Соотношение ТН/бШ
22.	0,145537
23.	0,035849
24.	0,226393
25.	0,491257
26.	0,026529
27.	0,095764
28.	0,156351
29.	0,130611
30.	0,467732
31.	0,082004
32.	0,058105
33.	0,023186
34.	0,014426

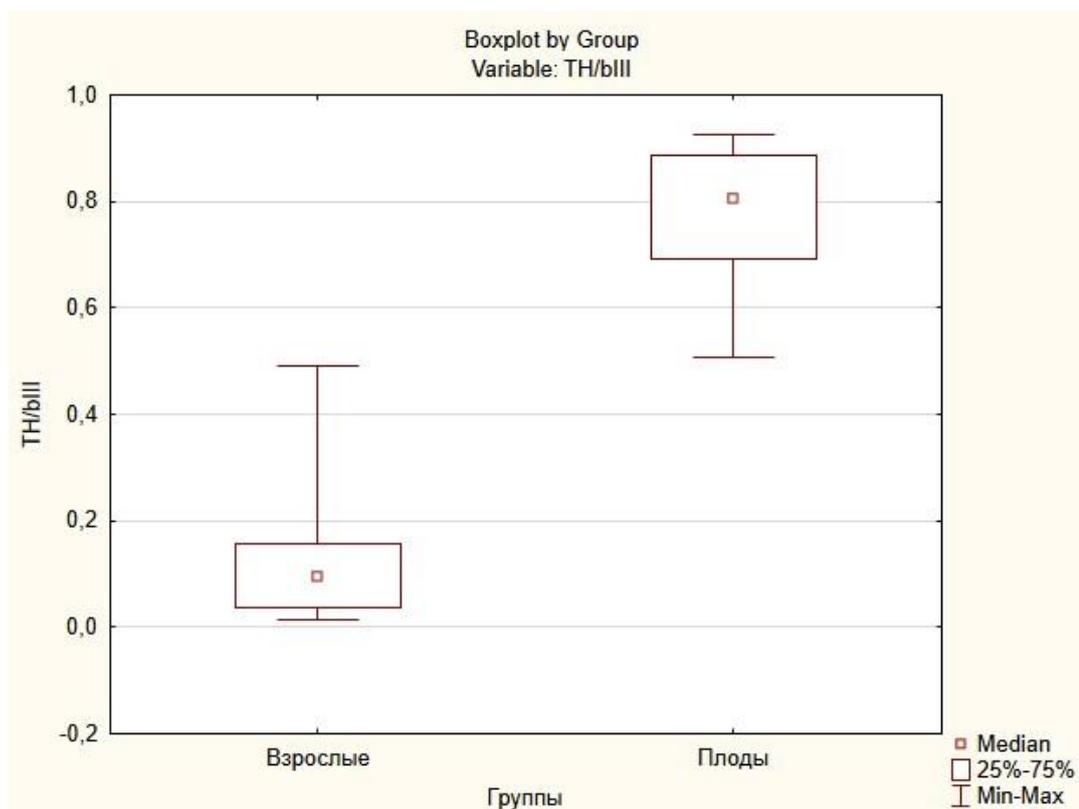


Рис. 38. Отношение ТН/бШ в каротидном клубочке взрослых и плодов. Статистически значимые различия ( $p < 0,05$ )

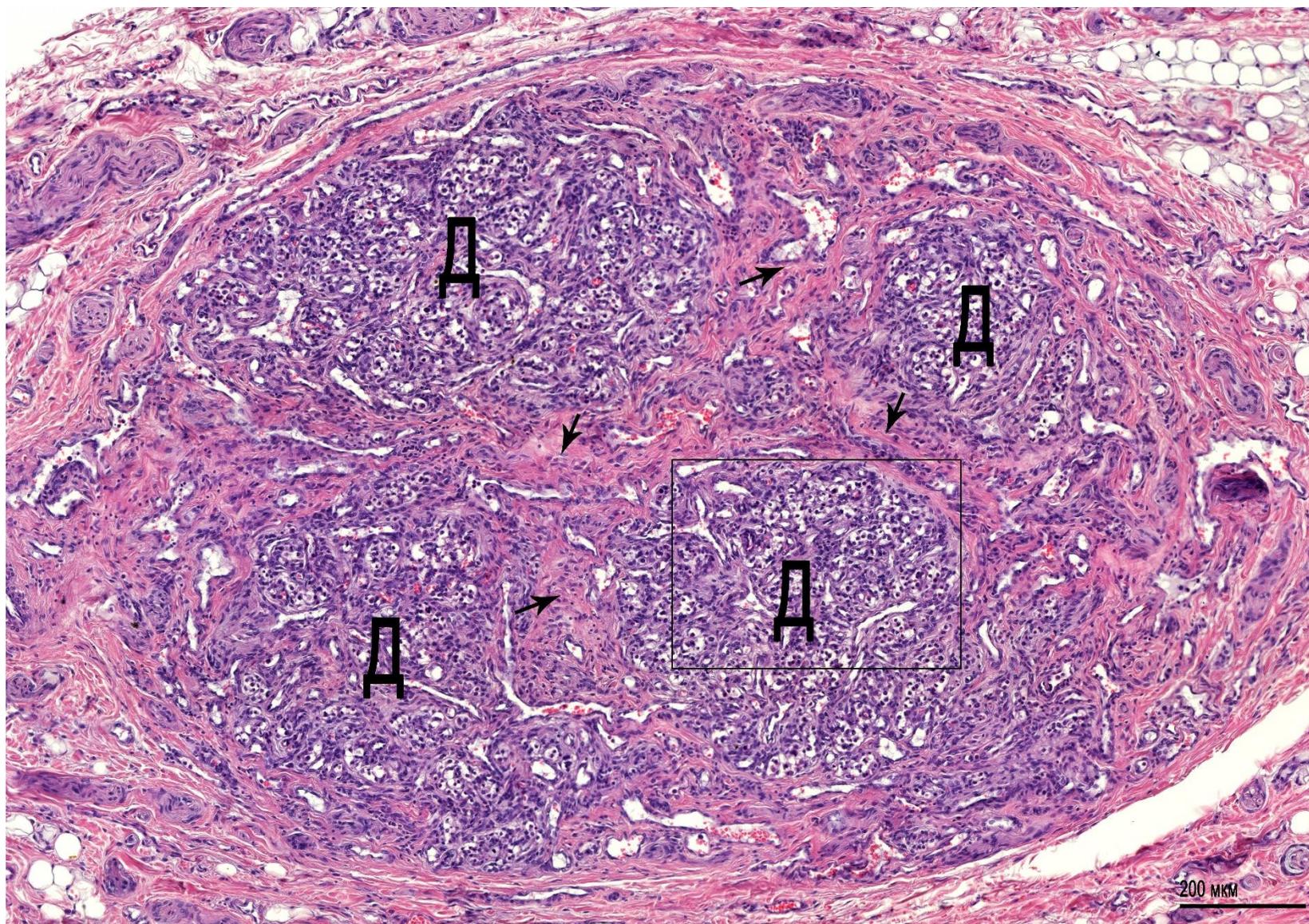


Рис. 39. Каротидный клубочек 24-летней женщины. Орган состоит из долек, разделённых соединительнотканными перегородками. Д – дольки, стрелки – окружающая дольки соединительная ткань. Прямоугольником выделен фрагмент, представленный на Рис. 40. Окраска гематоксилином и эозином

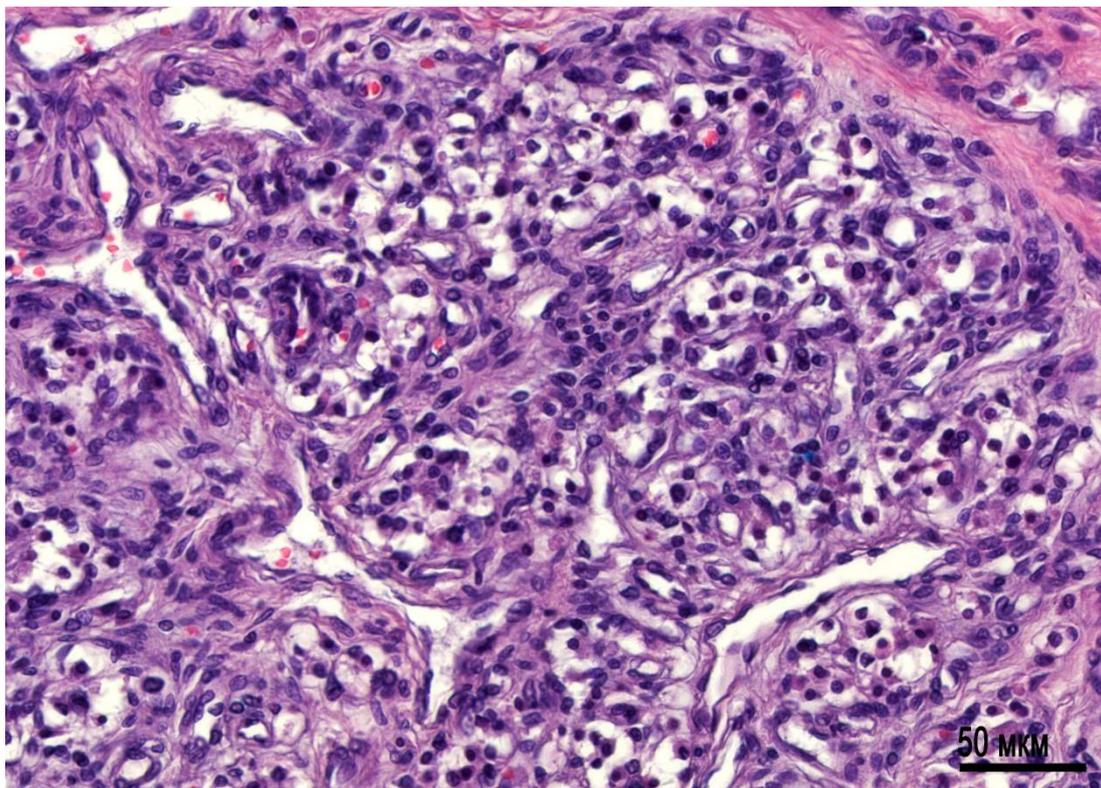


Рис. 40. Каротидный клубочек 24-летней женщины, большее увеличение. Окраска гематоксилином и эозином

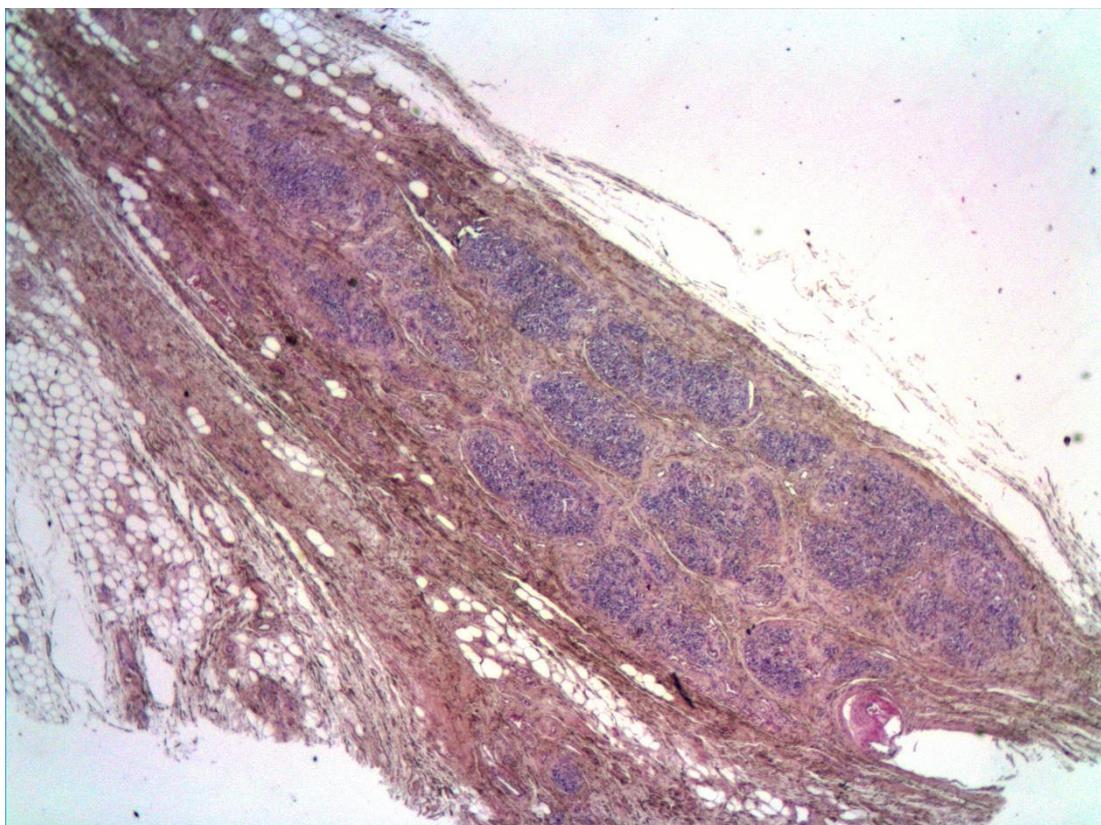


Рис. 41. Каротидный клубочек 62-летнего мужчины. Уменьшение паренхимы, разрастание соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 10х

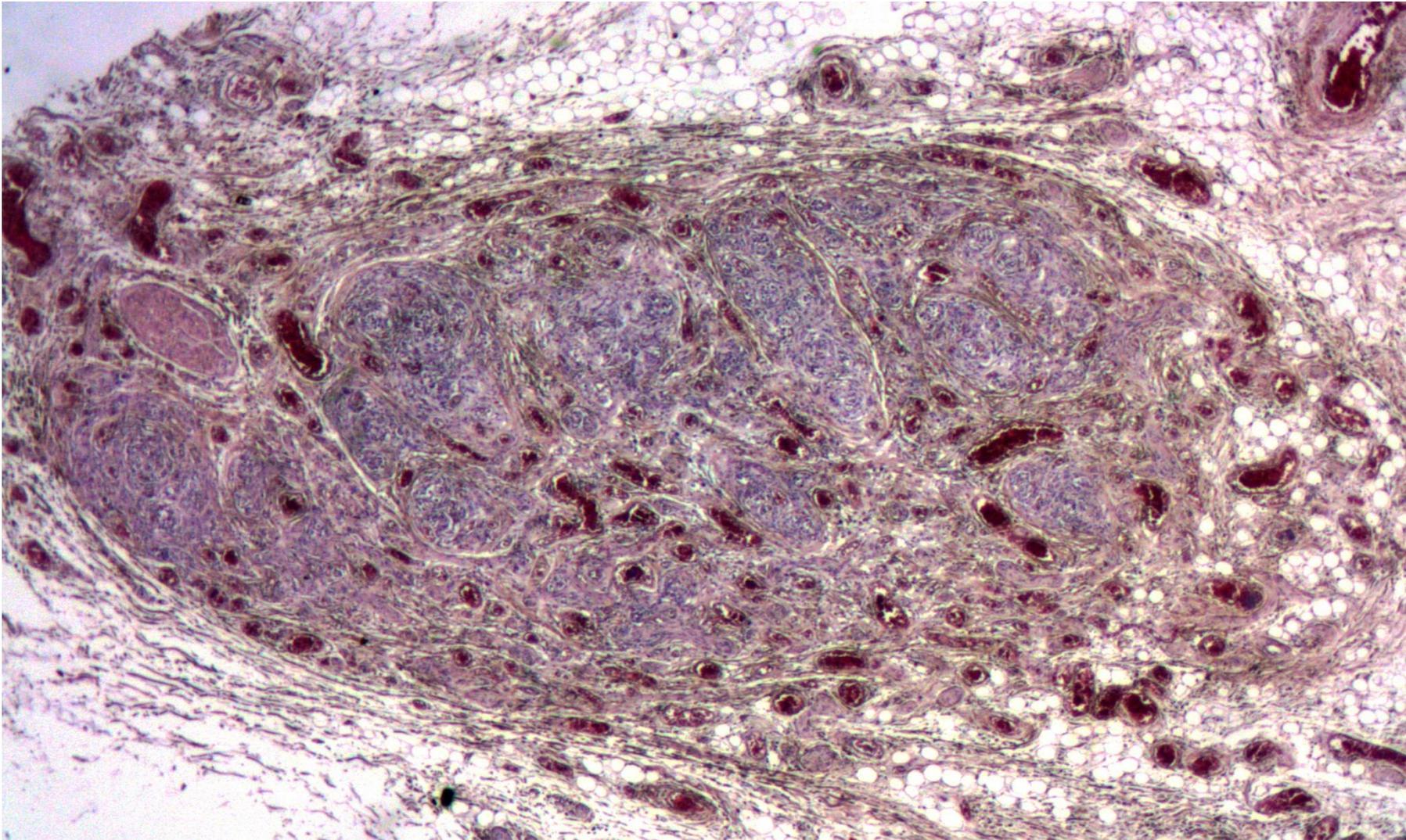


Рис. 42. Каротидный клубочек 56-летней женщины. Уменьшение паренхимы, разрастание соединительной ткани.  
Увеличение 10х

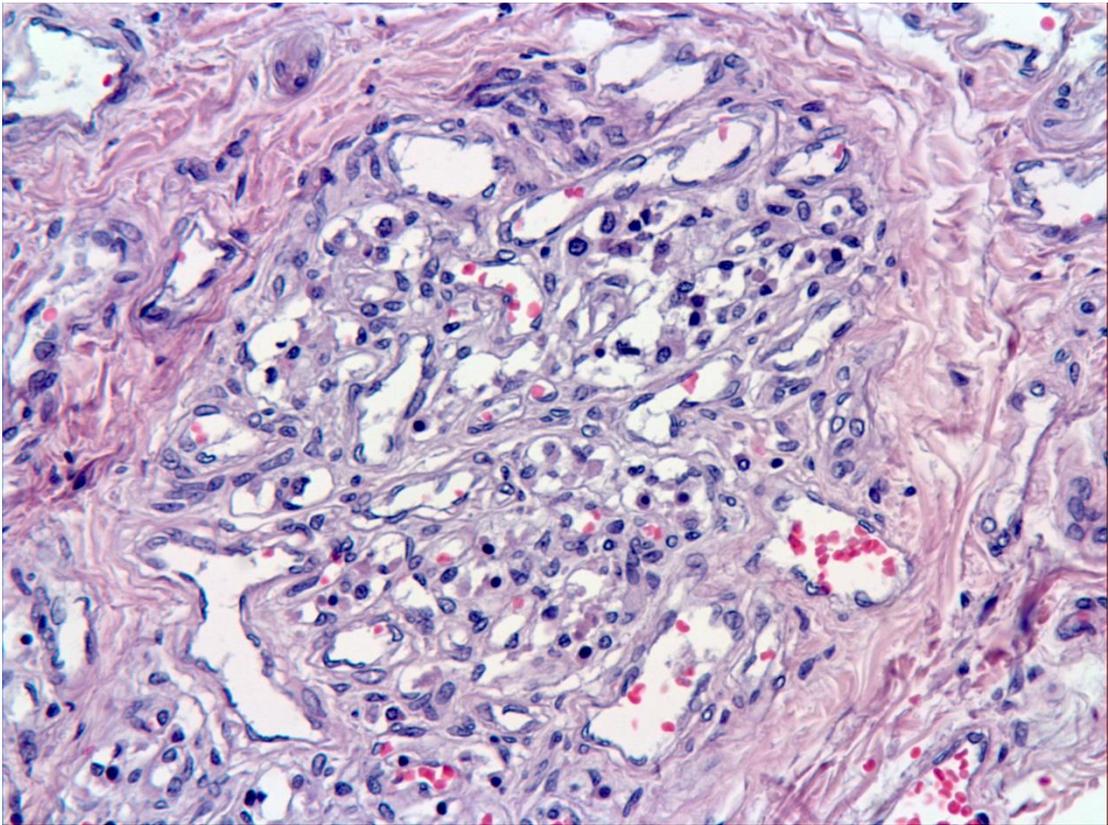


Рис. 43. Каротидный клубочек 24-летней женщины. Видны тёмные, светлые и пикнотические клетки. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х

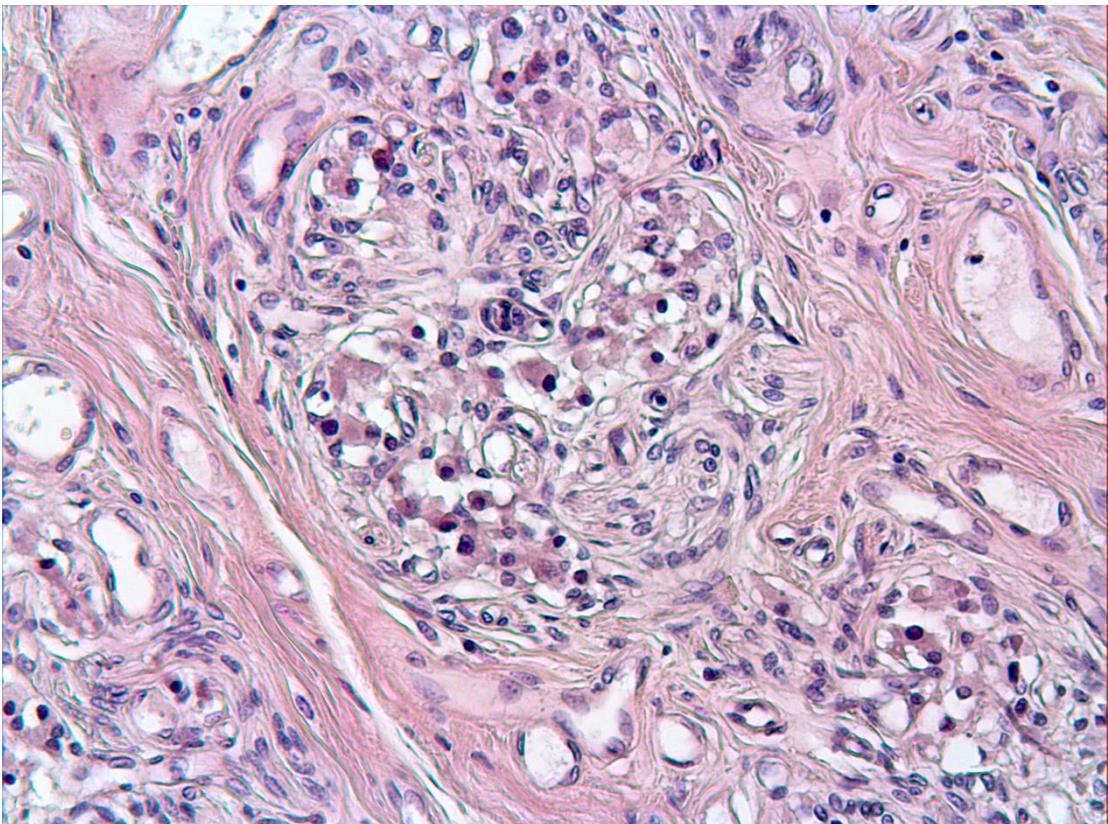


Рис. 44. Каротидный клубочек 87-летней женщины. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х

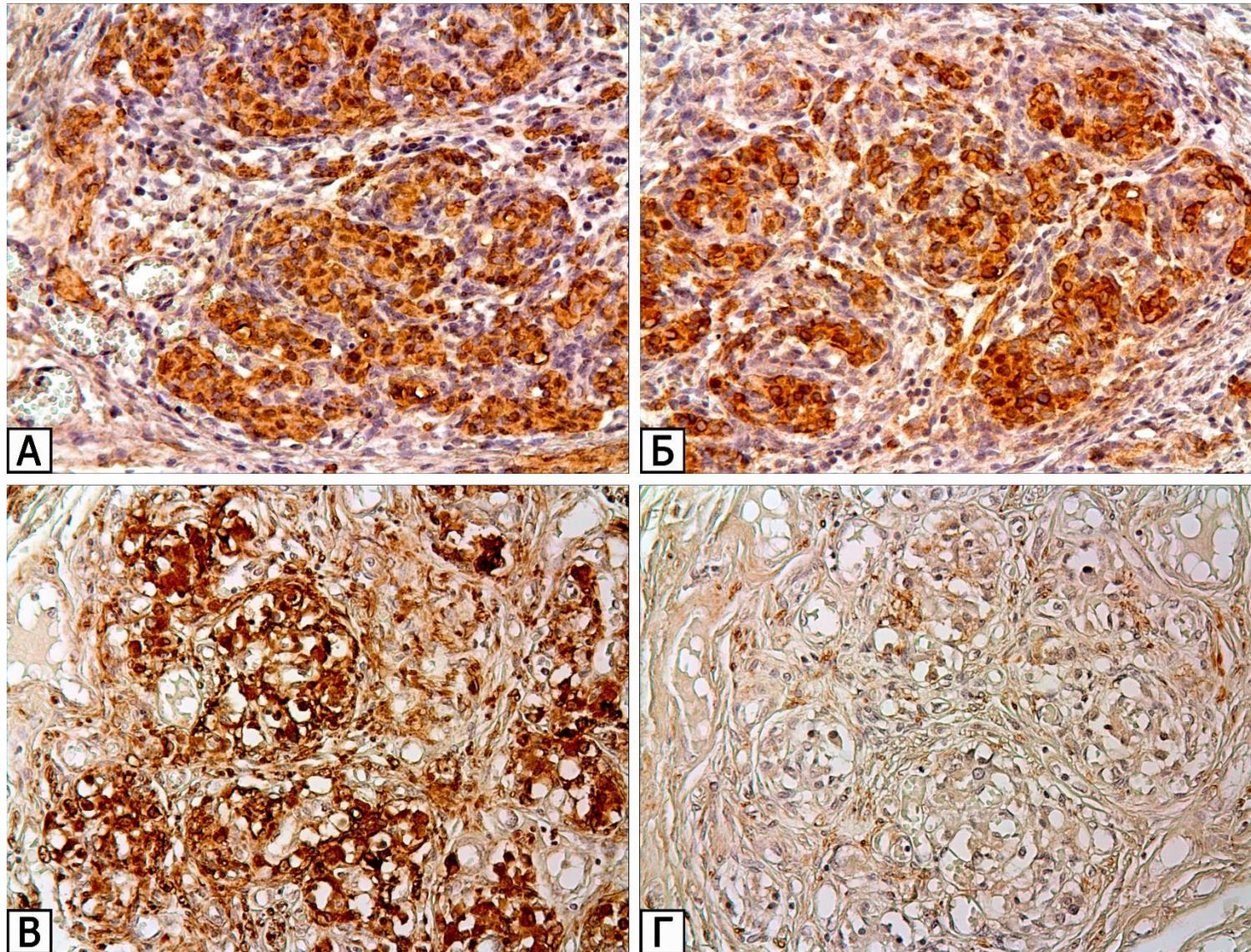


Рис. 45. Сравнение каротидного клубочка плода на 21-й неделе п.м. (сверху) и каротидного клубочка человека возрастом 68 лет (снизу). А и В – вIII-тубулин, Б и Г – тирозингидроксилаза. Заметное снижение количества тирозингидроксилазы в органе взрослого человека. Увеличение 200х

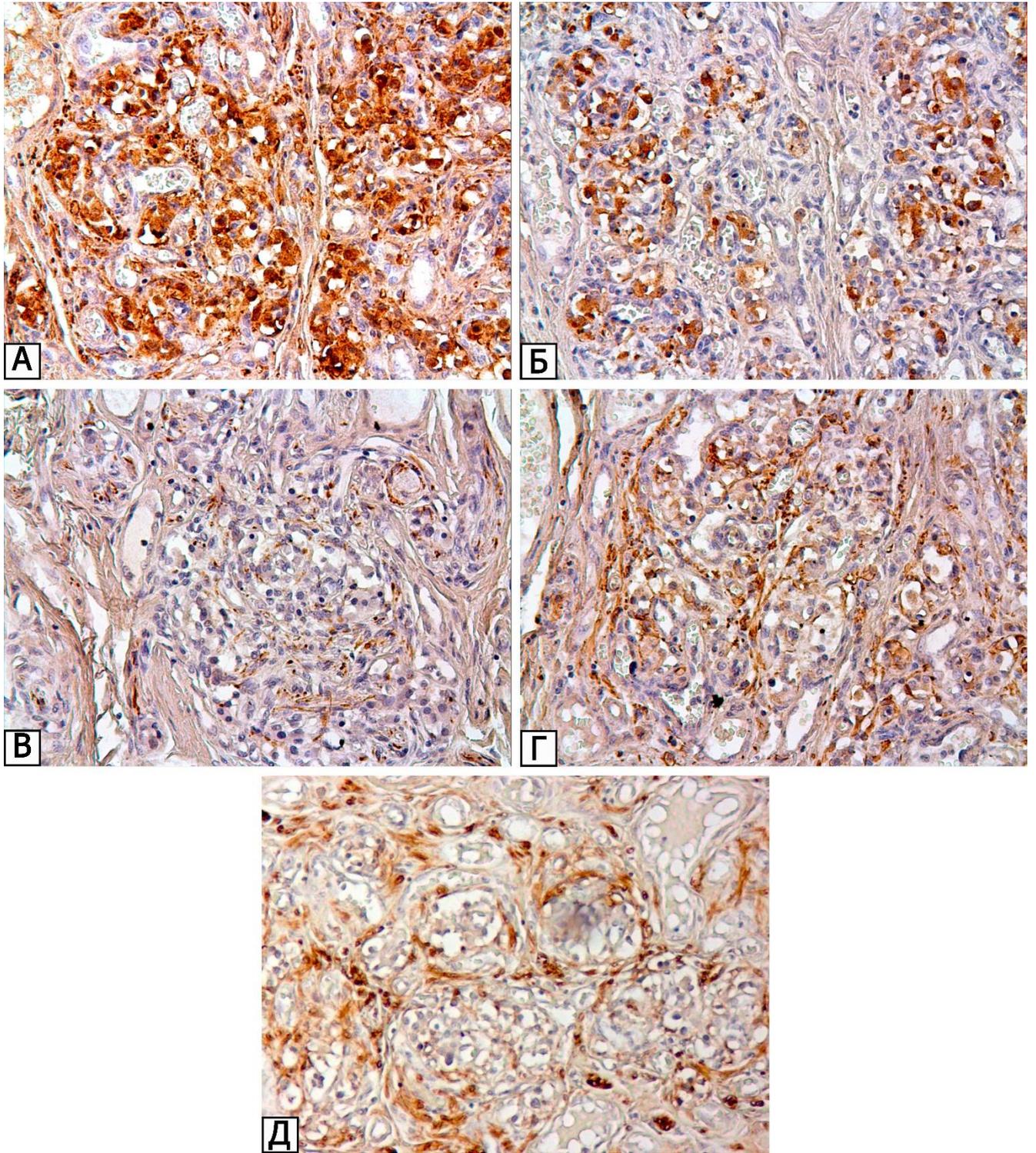


Рис. 46. Иммуногистохимическая реакция на PGP9.5 (А), синаптофизин (Б), нейрофиламенты (В), GFAP (Г), S100 (Д) в каротидном клубочке. Увеличение 200х

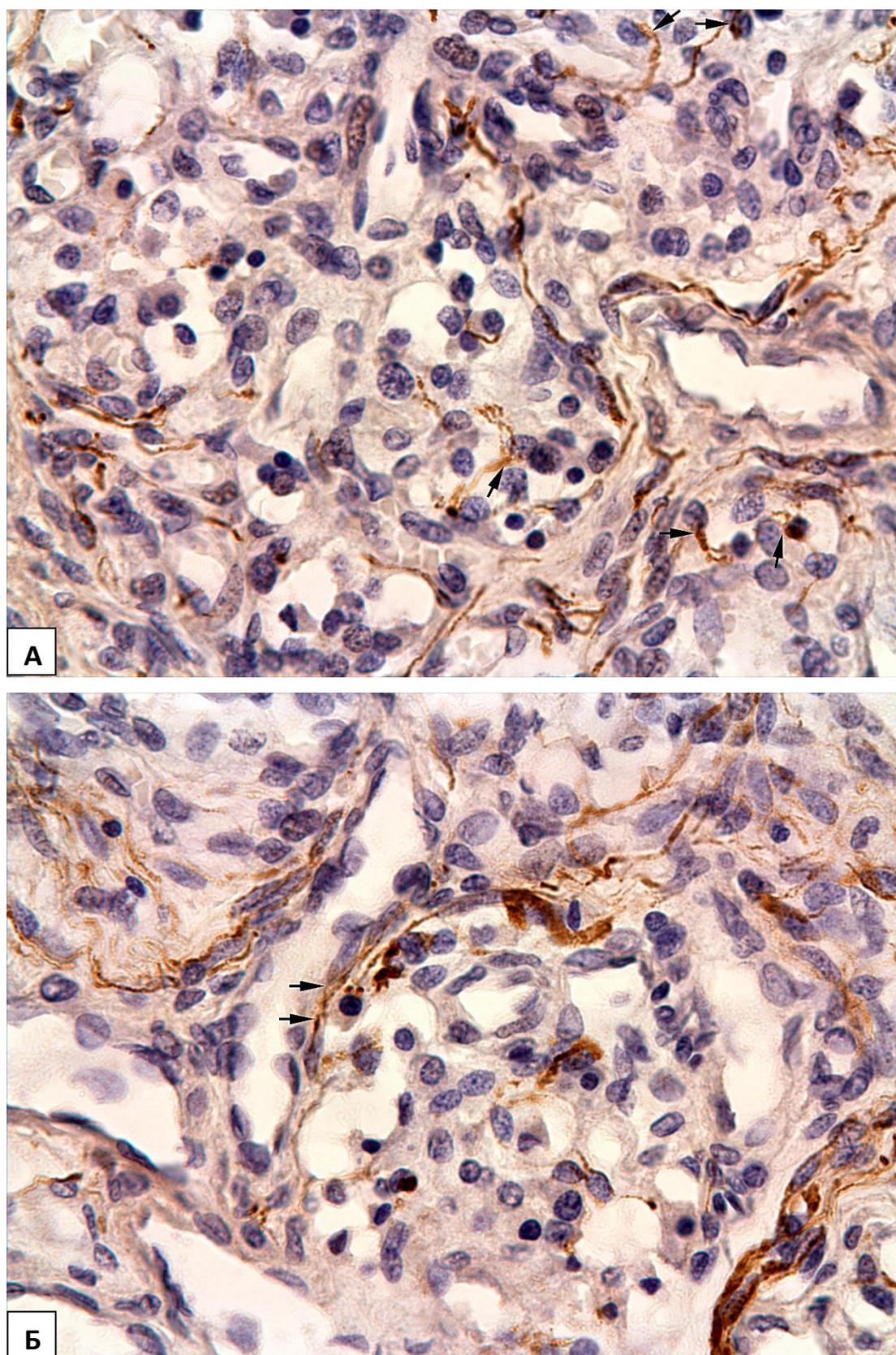


Рис. 47. Иммуногистохимическая реакция на нейрофиламенты. Нервные окончания контактируют тесно контактируют с клетками I типа (стрелки) (А), с базальной мембраной капилляра (стрелки) (Б). Увеличение 400х

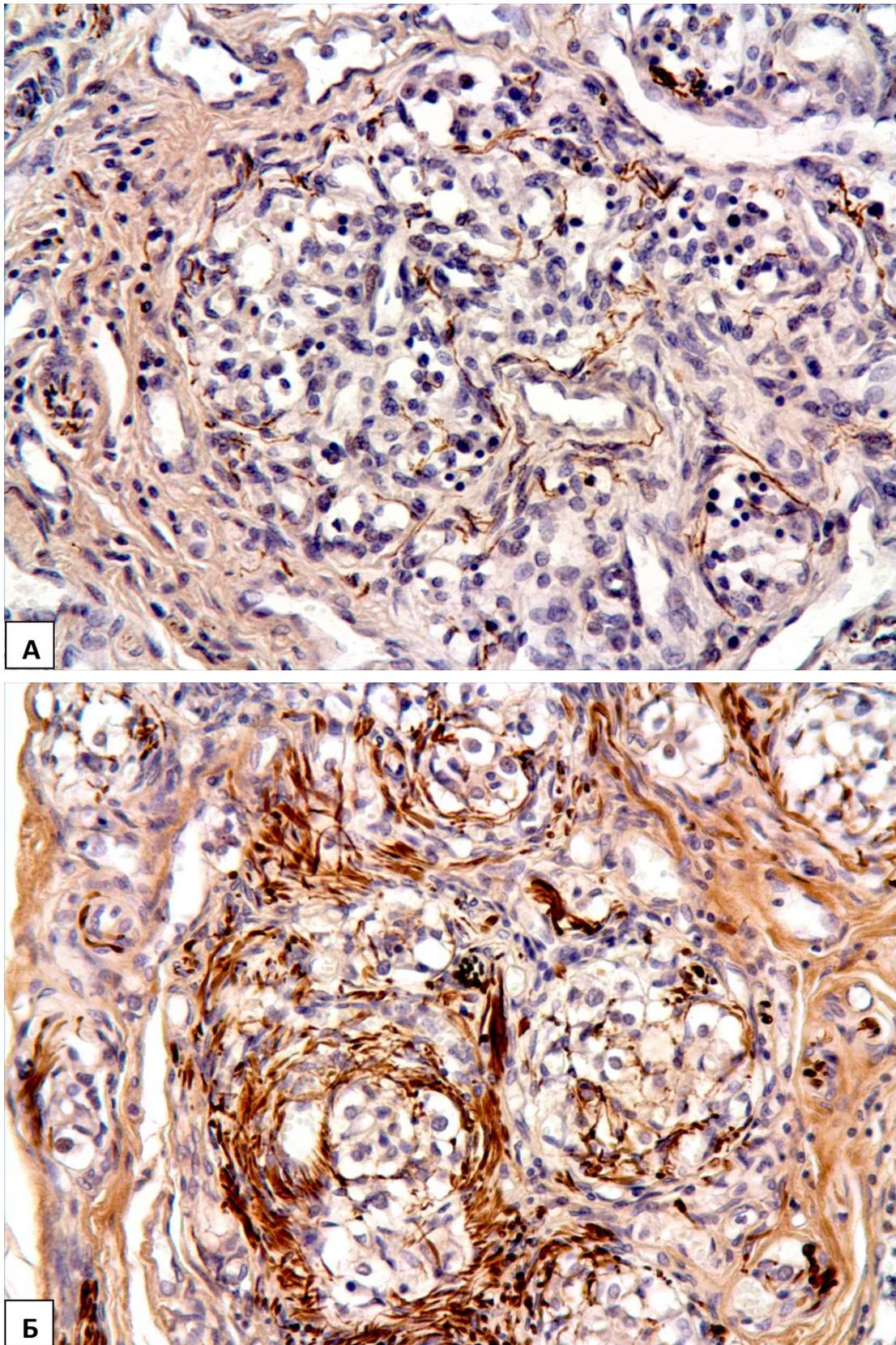


Рис. 48. Нервные волокна, позитивные к нейрофиламентам, в каротидном клубочке 24-летней женщины (А) и 78-летней женщины (Б). Увеличение 200х

## Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Со времён открытия каротидного клубочка прошло уже более 277 лет. Однако до сих пор вопрос о природе и функции органа отнюдь не является решённым. Благодаря экспериментам de Castro и Neumans за органом прочно закрепился статус хемосенсорного органа, а предполагаемая ранними исследователями гипотеза об эндокринной функции была отброшена [17].

С тех пор все усилия учёных были направлены на поиск первичного элемента, отвечающего за чувствительность органа к изменению парциального давления кислорода и углекислого газа в крови. Наличие на клетках I типа обильной иннервации волокнами, идущими от чувствительных клеток ганглия языкоглоточного нерва, склонило большинство исследователей в пользу теории об их первичной хемочувствительности. Возражения Abbott [27], King [24], Kobayashi [94], Hervonen [47] и Viscose [16], что большинство синапсов на клетках эфферентные, были проигнорированы.

В дальнейшем была доказана ошибочность эксперимента Viscose по перерезке нервов [43,146]. На данный момент то, что нервные волокна, иннервирующие клетки I типа, являются аксонами чувствительных нейронов, лежащих в ганглии языкоглоточного нерва, установленный факт, многократно подтверждённый разными методами.

Последние сомнения в том, что клетки I типа являются первичным хемочувствительным элементов, отпали после экспериментов, показавших, что ответ на хемочувствительность пропадает после уничтожения клеток органа [121], а изолированные в клеточных культурах нейроны ганглия языкоглоточного нерва не показывают никакого ответа на гипоксию, пока не установят контакты с клетками I типа [122].

Однако современная общепринятая молекулярная модель передачи сигналов от митохондрий к мембране не может разрешить ряд вопросов, остающихся открытыми на сегодняшний момент. В чём заключается биологический смысл наличия большого количества эфферентных синапсов на окончаниях

чувствительных нервов и большого количества различных нейромедиаторов, включая катехоламины, в цитоплазме клеток I типа? Почему происходит сохранение ответа синусного нерва в ответ на гипоксию даже после применения блокаторов ацетилхолиновых и пуриновых рецепторов?

Первый вопрос, по своей сути, можно переформулировать так: существует ли особая эндокринная функция каротидного клубочка? Если да, то в чём её биологический смысл?

Второй вопрос сводится к вопросу о возможности нервных окончаний являться непосредственными сенсорами кислорода.

Чтобы ответить на эти вопросы, а также очистить теорию о роли каротидного клубочка от тех «наслоений», которые возникли из-за игнорирования артефактов гистологических методов исследования, и было проведено это исследование.

#### **4.1. Онтогенез каротидных клубочков человека**

Полученные нами данные показывают, что даже на самых ранних сроках развития (8 недель п.о.) каротидный клубочек представляет собой довольно крупную структуру, превышающую приблизительно в 7 раз по площади поперечное сечение внутренней сонной артерии. При этом уже с этого срока можно обнаружить формирование гломерул, представленных двумя типами клеток. Наличие позитивной реакции на bIII-тубулин и высокий уровень тирозингидроксилазы позволяет предположить, что уже с этого периода каротидный клубочек представляет собой активно функционирующий орган.

Наши данные согласуются с работой Korkala и Hervonen, которые с помощью формалин-индуцированной флюоресценции также обнаружили наличие катехоламинов в клетках 8-недельного эмбриона [147]. Однако изученный авторами эмбрион имел теменно-копчиковую длину 28 мм, в то время как изученный нами – 24 мм. Таким образом, исследованный нами эмбрион был более раннего срока.

С возрастанием срока гестации отмечалось увеличение объёма цитоплазмы клеток I типа, приобретение ею слабой эозинофилии. С 13-14 недели гестации можно было обнаружить формируемые гломерулами дольки, что немного раньше,

чем в наблюдении Scraggs с соавторами [148]. В дальнейшем отмечалось лишь увеличение объёма органа и увеличение числа долек.

На всех стадиях внутриутробного развития мы обнаружили высокое отношение ТН/бШ, что может свидетельствовать о большом синтезе катехоламинов каротидным клубочком в течение всего антенатального периода онтогенеза.

Одновременно с ростом органа уменьшались его относительные размеры. Так, отношение наибольшего размера органа к внутренней сонной артерии 3-4 раза больше диаметра правой внутренней сонной артерии у 8-недельного эмбриона, на 10 неделе орган был в 1,86 раза больше диаметра внутренней сонной артерии, в дальнейшем он был лишь 1,1-1,5 раза больше.

На самых ранних сроках развития из-за плотного расположения клеток друг к другу было сложно проследить ход нервных волокон внутри органа, однако наличие хорошо развитой нервной сети уже с 13-14 недели развития позволяет предположить, что орган был обильно иннервирован и раньше.

Исследование каротидного клубочка взрослых показало ещё большее уменьшение относительных размеров органа. Максимальный поперечный размер каротидного клубочка не был больше трети диаметра внутренней сонной артерии (случай №22), а в среднем составлял лишь около четверти её диаметра. При этом отмечалось значительное разрастание соединительной ткани, особенно в пожилом возрасте, с одновременным уменьшением количества паренхимы. Это может свидетельствовать об уменьшении важности его эндокринной роли у взрослых.

Сравнивая каротидный клубочек молодой женщины 24-х лет с каротидными клубочками лиц старше 55 лет, можно отметить возрастание плотности нервных волокон позитивных на нейрофиламенты. Вероятно, это может быть связано с гибелью клеток I типа с сохранением нервного аппарата органа. Особо стоит отметить, что хотя физиологических тестов проведено не было, большинство пациентов, судя по анамнезу, не имели в течение жизни хронической дыхательной недостаточности. Таким образом, несмотря на выраженную атрофию органа,

функция дыхания у пациентов была сохранна или, по крайней мере, обеспечивала осуществление ими нормальной повседневной деятельности.

Это, в свою очередь, согласуется с данными Rokorski соавторами, которые отметили отсутствие каких-либо различий в ответе на гипоксию между молодыми (в среднем 24 года) и пожилыми (в среднем 71 год) женщинами [149].

Самым большим отличием каротидных клубочков взрослых является очень низкое отношение ТН/вIII в клетках I типа. Из литературных данных известно, что уже у 4-х месячных младенцев количество клеток, иммунопозитивных к тирозингидроксилазе, довольно низкое [35]. Эта особенность не только отличает орган взрослых и детей от каротидного клубочка плодов и эмбрионов, но и от каротидного клубочка крыс, который также характеризуется высоким содержанием тирозингидроксилазы, что видно из настоящей работы и литературных данных [35,36].

Однако этот факт не говорит в пользу более высокого содержания самих катехоламинов в клетках I типа крыс. Продуцируя большое количество тирозингидроксилазы, клетки I типа у крыс имеют очень низкий уровень катехоламинов, что свидетельствует о замедлении синтеза на последующих этапах биохимических превращений. Но, несмотря на это, у крыс отмечается снижение продукции тирозингидроксилазы уже на вторые сутки после рождения [37]. При этом ряд авторов отмечает, что если на момент рождения чувствительность клеток I типа минимальна, то затем, по мере взросления, она значительно возрастает [150–152].

#### **4.2. Каротидный клубочек как часть единой симпато-адреналовой системы**

Рассматривая каротидный клубочек совместно с органом Цукеркандля и мозговым веществом надпочечника, мы получаем интересную картину. В эмбриональном и фетальном периодах каротидный клубочек человека содержит большое количество клеток, позитивных на тирозингидроксилазу, при этом он имеет относительно большие размеры. Ещё большего развития во внутриутробном периоде получает орган Цукеркандля.

Таким образом, наши данные показывают, что в эмбриональном и плодном периодах каротидный клубочек представляет уже достаточно крупную структуру, но в это же время в надпочечнике наблюдаются лишь мелкие разбросанные группы клеток, большая часть из которых к тому же незрелая. Более того, у эмбриона сроком 8 недель при окраске гематоксилином и эозином вообще не удалось обнаружить каких-либо клеток мозгового вещества без применения иммуногистохимии, которая выявила лишь единичные клетки, содержащие тирозингидроксилазу.

Подобная картина может свидетельствовать о том, что во внутриутробном периоде развития каротидный клубочек выполняет эндокринную функцию наравне с органом Цукеркандля. Оба органа синтезируют катехоламины, компенсируя этим недостаточность функции мозгового вещества надпочечников.

Из литературы известно, что даже после рождения мозговое вещество надпочечника остаётся незрелым, а его функции, вероятно, берёт на себя орган Цукеркандля, который достигает максимального развития к трём годам. В дальнейшем наблюдается его инволюция с одновременным ростом и созреванием мозгового вещества надпочечника [153].

Таким образом, теория Н.А. Смиттен о рудиментарном характере клеток каротидного клубочка имеет под собой весомые основания, если рассматривать это с точки зрения эндокринной функции. В эволюционном ряду от круглоротых до млекопитающих первой подвергается редукции хромаффинная ткань жаберных артерий. Одновременно с этим мозговое вещество надпочечников является наиболее поздним образованием [17].

Подобное явление мы наблюдаем и в индивидуальном развитии человека. Каротидный клубочек человека практически сразу после рождения перестаёт синтезировать тирозингидроксилазу. Затем после второго года постнатального развития подвергается инволюции орган Цукеркандля, и функцию выработки катехоламинов берёт на себя мозговое вещество надпочечника. Одновременно с этим происходит переключение функции каротидного клубочка с эндокринной на хеморецепторную.

### 4.3. Предполагаемая модель работы каротидного клубочка

Таким образом, принимая во внимание полученные нами результаты, фундаментальные работы Т.А. Григорьевой [69] и сравнительно-анатомические исследования Н.А. Смиттен [17], можно утверждать о наличии эндокринной функции у каротидного клубочка. В связи с этим вырисовывается принципиально новая модель работы органа.

Будучи частью единой симпато-адреналовой системы, каротидный клубочек является филогенетическим гомологом хромаффинных клеток круглоротых и рыб. У них хромаффинные клетки не получали непосредственной иннервации и были относительно независимы от нервной системы. Они непосредственно воспринимали изменения химического состава притекающей к ним крови и в ответ на различные стимулы выбрасывали катехоламины. В условиях слаборазвитой нервной регуляции этот гуморальный путь был единственным возможным [17].

Таким образом, уже в самом начале своего эволюционного пути хромаффинная ткань выполняла одновременно две функции – чувствительную и эндокринную.

По мере продвижения по эволюционной лестнице происходит важная перестройка всей хромаффинной системы. Особо стоит отметить три отряда амфибий. У безногих амфибий отмечается всё ещё сохраняющееся сегментарное строение хромаффинной ткани, совпадающее с сегментацией сосудов, к которым они прилежат. В отряде хвостатых амфибий происходит потеря сегментации хромаффинной ткани. Но затем, в отряде бесхвостых амфибий, вместе с появлением более совершенной сегментированной симпатической нервной системой отмечается возникновение вторичной метамерии хромаффинной ткани, но уже связанной с вегетативной нервной системой [17].

В дальнейшем эволюционном ряду происходит всё большая централизация хромаффинной ткани в едином органе – надпочечнике – и редукция хромаффинной ткани вне его. Централизация происходит и внутри самого надпочечника. Если у рептилий и птиц мозговое вещество надпочечника представлено множеством разбросанных по корковому веществу групп хромаффинных клеток, то у

млекопитающих уже отмечается формирование единого скопления, расположенного под корковым веществом [17].

Таким образом, по теории Смиттен, с усложнением в процессе эволюции нервной регуляции всего организма, происходила централизация хромаффинной ткани, которая всё больше теряла свою независимость от нервной системы. Хромаффинная ткань вне надпочечников, напротив, подвергалась атрофии от бездействия и у современных млекопитающих осталась лишь в качестве рудимента [17].

Интересным фактом является то, что относительную самостоятельность хромаффинные клетки каротидного клубочка сохраняют и у млекопитающих. В ответ на полную денервацию органа не происходит никакой дегенерации клеток I и II типа [42,43]. В то же время клетки, изначально зависимые от нервной системы, например, клетки вкусовых почек языка, в ответ на перерезку нервов пропадают, замещаясь обычным эпителием [154–156].

Схожей со Смиттен точки зрения придерживалась Григорьева. По её мнению, никакого отношения к хемочувствительной функции каротидный клубочек не имел, являясь лишь эндокринным органом. При этом, согласно её работе, обильной иннервации стенок сосудов было достаточно для обеспечения хеморефлекса на изменение газового состава крови [69].

Однако, несмотря на то что Смиттен и Григорьева были правы в отношении эндокринной функции, нельзя согласиться с их взглядом на хемосенсорную функцию. Как было показано в обзоре литературы, эксперименты по изолированному воздействию на каротидный клубочек *in vitro* показали, что именно в этом органе сосредотачиваются источник хеморефлекса. Более того, эксперименты по криодеструкции клеток клубочка убедительно доказали, что хемочувствительность синусного нерва пропадает при восстановлении со временем барочувствительности.

Как правильно заметил В.В. Яглов с соавторами, исследователей смущала возможность выполнения двух различных функций одной и той же клеткой [157]. Именно поэтому и Григорьева, и Смиттен не смогли довести свои теории до

логического завершения. В противоположность им зарубежные исследователи, сконцентрировавшись лишь на хеморецепторной функции каротидного клубочка, не смогли увидеть за ней эндокринную.

Учитывая всё вышесказанное, можно представить следующую схему эволюционного развития симпато-адреналовой системе. Начиная с круглоротых и рыб, хромаффинная ткань выполняла сразу две функции – хемочувствительную и эндокринную. Однако в процессе эволюции произошло разделение хромаффинной ткани на две группы. Первая группа взяла на себя в большей мере эфферентную эндокринную функцию, вторая – в большей мере хемочувствительную.

Однако обе группы не утратили полностью одну из функций, в большей или меньшей степени сохраняя обе. Так, согласно исследованиям, хромаффинные клетки надпочечника взрослых животных выбрасывает катехоламины лишь в ответ на стимуляцию симпатическими нервными волокнами, однако при их денервации к ним возвращается способность выбрасывать катехоламины в ответ на гипоксию [158,159]. Таким образом, помимо своей основной функции клетки сохраняют хемочувствительность, которая, однако, тормозится влиянием эфферентных симпатических нервных волокон.

То же можно сказать и о каротидном клубочке. Несмотря на то, что основной его функцией стало определение парциального давления газов в крови у взрослых людей, он сохраняет свою эндокринную функцию в антенатальном периоде, возмещая тем самым недостаточность функции незрелого мозгового вещества надпочечника.

О единстве мозгового вещества надпочечника и каротидного клубочка также свидетельствует тот факт, что оба органа одинаково реагируют выделением катехоламинов на острую гипоксию, а также гиперплазией хромаффинных клеток в ответ на хроническую гипоксию [19,160]. Данные о том, что в ответ на хроническую гипоксию увеличивается синтез катехоламинов в обоих органах подтверждает идею о том, что эндокринная функция присуща им обоим.

Однако самое интересное касается чувствительной иннервации каротидного клубочка. В большинстве работ отмечено наличие на окончаниях, принадлежащих

аксонам чувствительных нейронов ганглия языкоглоточного нерва, эфферентных и реципрокных синапсов. Но все исследователи трактовали их наличие односторонне только как способ регуляции хеморецепторной функции.

Исследователи наблюдали уменьшение хеморецепторного ответа клеток I типа в ответ на электрическую стимуляцию языкоглоточного нерва, причём этот эффект опосредуется выделением катехоламинов [161]. Все объяснения этого феномена с позиции лишь хеморецепторной функции выглядят неубедительными.

На наш взгляд, данный феномен можно объяснить, если допустить наличие в каротидном клубочке аксон-рефлекса. Так, согласно Заварзину, чувствительные нейроны одновременно могут выполнять и эфферентную функцию. Этим объясняется, к примеру, кожно-сосудистая реакция в ответ на раздражение [162].

Вероятно, нечто подобное происходит и в каротидном клубочке. При слабых изменениях химического состава крови нет смысла задействовать все механизмы симпато-адреналовой системы. Однако при сильно выраженной гипоксии клетки I типа должны сильнее возбуждать чувствительные волокна синусного нерва, выбрасывая большее количество ацетилхолина и АТФ в качестве медиаторов. В ответ на это чувствительные волокна не только передают сигнал в ствол мозга, но и одновременно через свои же эфферентные синапсы в обратном направлении на клетки I типа. Это приводит к усиленному выделению клетками I типа катехоламинов, включая дофамин. Именно это может объяснить результаты эксперимента Hellström, который наблюдал сокращение выделения дофамина и норадреналина клетками I типа в ответ на гипоксию, если за 14 дней до этого была выполнена перерезка синусного нерва [44].

Эта гипотеза также отлично объясняет наблюдения Zapata, который отмечал двухфазное воздействие дофамина, который вначале тормозил импульсацию синусного нерва, а при дробном повторном введении – усиливал [106]. Вероятно, первоначальное возбуждение ацетилхолином приводит к увеличению импульсации синусного нерва. Если гомеостаз организма не приходит в норму, клетки I типа начинают самостоятельно, а также под воздействием самого синусного нерва дробно выпускать дофамин, который вызывает ещё большее

увеличение импульсации синусного нерва, а также, вероятно, попадает в кровоток, приводя к системным эффектам. Последние, однако, не могут быть сильно выраженными у взрослых людей, так как эндокринная функция каротидного клубочка в значительной мере редуцирована.

Таким образом, хотя клетки I типа и утратили частично свои эндокринные функции во взрослом состоянии, в эмбриональном и плодовом периодах развития они сохраняются. С этим согласуются наши результаты, свидетельствующие о большом количестве тирозингидроксилазы в клетках эмбриона и плодов, а также обнаружение в работе Korkala самих катехоламинов [147]. В свою очередь Hervonen подтверждает наличие вполне зрелой иннервации на клетках I типа в каротидном клубочке плодов во втором триместре внутриутробного развития [47].

Исходя из вышесказанного, становится абсолютно понятным наличие наряду с афферентными эфферентных и реципрокных синапсов. Однако остаётся нерешённым один вопрос: может ли синусный нерв чувствовать изменение химического состава крови без клеток I типа?

Изначально считалось, что не может, так как в клеточной культуре нейроны каменистого ганглия не показывали никакого ответа на гипоксию [122], а в подвергнутом криодеструкции каротидном клубочке даже после прорастания нервных волокон не отмечалось хемочувствительности [121]. Однако эти работы можно подвергнуть критике.

В первом случае мы имеем клетки, лишённые своих глиальных оболочек. А как известно на данный момент, функции глиальных клеток не ограничиваются простой механической поддержкой. Они активно участвуют и в метаболизме нейронов, а также являются регуляторами ионного обмена в межклеточном пространстве [129]. Могут ли глиальные клетки и клетки II типа в целостном организме способствовать хемочувствительности самих нервов? Вероятно, да. Ещё ранние наблюдения показывали, что гипоксия и гиперкапния напрямую влияют на импульсацию нервных волокон [163,164]. Однако следует признать, что ответа самих нервных волокон недостаточно для быстрой и адекватной реакции на гипоксию.

#### **4.4. Артефакты и их роль в ошибках диагностики различных заболеваний**

Из обзора литературы видно, что большие затруднения исследователей были вызваны огромным количеством артефактов, имитирующих вполне классические морфологические признаки той или иной патологии. Результаты нашей работы свидетельствуют, что тёмные, светлые и пикнотические (прогениторные) клетки, описываемые рядом авторов, на самом деле являются ничем иным, как артефактами, вызванными аутолизом. Следовательно, нет никаких оснований на светооптическом уровне выделять подтипы хеморецепторных клеток.

Конечно, данные, полученные с использованием электронного микроскопа, говорят в пользу существования разных субпопуляций клеток I типа. Но это, вероятно, означает то, что в каротидном клубочке разные типы клеток синтезируют в большей или меньшей степени различные типы катехоламинов, как происходит в других хромаффинных тканях [165]. Но это ни в коем случае не позволяет проводить аналогии со светооптическими особенностями клеток, так как это объясняется лишь неравномерно протекающим процессом аутолиза.

Поэтому выводы исследователей, заявляющих об изменении соотношения подтипов клеток при различных патологических состояниях, являются необоснованными. Скорее всего, изменение соотношений клеток является результатом того, что при различных заболеваниях имеет место различный уровень гипоксии ткани, которая может способствовать более быстрому аутолизу.

Стоит отметить также различные вакуоли и пенистость цитоплазмы, которые некоторые авторы приняли за проявление или результат течения различных заболеваний. Подобная пенистость цитоплазмы и вакуолизация вызваны в большей степени влиянием формалиновой фиксации. На зафиксированных в формалине препаратах здоровых крыс цитоплазма также была светлой, пенистой, содержала мелкие вакуоли, которые были особенно заметны не только в клетках I типа, но и в ганглионарных клетках. Однако фиксация в жидкости Карнуа или 70% спирте полностью меняла морфологическую картину.

Результаты иммуногистохимического исследования позволяют выделить стабильные и нестабильные по отношению к аутолизу антигены. К стабильным можно отнести  $\beta$ III-тубулин, PGP9.5, тирозингидроксилазу, синаптофизин и S100. К нестабильным – GFAP и нейрофиламенты 200кД. Более того, фиксация в формалине ненадлежащего качества приводит также к снижению качества реакции с PGP9.5, синаптофизинном и S100.

Таким образом, трактуя морфологическую и иммуногистохимическую картину каротидного клубочка плодов и взрослых людей, следует помнить о возможном возникновении артефактов, связанных с действием аутолиза и различных фиксаторов на ткань. Это необходимо учитывать при планировании иммуногистохимических исследований на аутопсийном человеческом материале.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За миллионы лет эволюции у многоклеточных организмов сформировалось огромное количество механизмов регуляции гомеостаза. Изменение работы каротидного клубочка лишь один из возможных.

Каротидный клубочек входит в сложную систему контроля внешнего дыхания, тесно взаимодействующую с системами регуляции сердечной и сосудисто-двигательной функции. Эта система имеет множество звеньев, через которые сигнал об изменении внутренней среды организма доходит до эффекторных органов. Естественно, что на своём пути сигнал значительно преобразовывается, а эффекторные органы по механизму обратной связи в свою очередь меняют деятельность эффекторных органов.

Организм – это целостная система, которая всегда реагирует целиком, даже если видимые нами изменения наблюдаются локально. Всё это лишь видимые явления, за которыми скрываются процессы, остающиеся в тени. Уже сам этот факт говорит о невозможности лечения любого типа системной патологии лишь локальным воздействием на какое-либо отдельное звено цепи. Таким образом, идеи о таргетной терапии, направленной лишь на модификацию работы одного органа, не обоснованы.

Именно по причине тесной взаимосвязи органов между собой в настоящей работе каротидный клубочек был изучен одновременно с двумя другими важнейшими представителями симпато-адреналовой системы – мозговым веществом надпочечника и органом Цукеркандля.

В нашей работе было показано, что клетки каротидного клубочка имеют высокий уровень синтеза тирозингидроксилазы на всём протяжении внутриутробного периода развития, при этом на ранних этапах эмбриогенеза морфология и иммуногистохимические характеристики клубочка сходны с таковыми органа Цукеркандля. В тоже самое время мозговое вещество надпочечника представлено единичными скоплениями незрелых клеток и не может полноценно выполнять свою функцию. Таким образом, каротидный клубочек наравне с органом Цукеркандля, вероятно, выполняют эндокринную функцию,

компенсируя тем самым недостаточность синтеза катехоламинов мозговым веществом надпочечника.

Нами установлено, что по мере старения организма каротидный клубочек претерпевает атрофические изменения. При этом у пациентов не наблюдалось каких-либо расстройств дыхания. Это может быть связано только с тем, что изменяющийся сигнал от органа начинает иначе преобразовываться на других уровнях: уровне чувствительной нервной клетки ганглия языкоглоточного нерва, чувствительных и моторных ядер ствола мозга и т.д.

Таким образом, наше исследование показало, что нельзя останавливаться на изучении одного органа целой системы. Лишь комплексное изучение организма как целого может помочь в разработке новых подходов к лечению той или иной патологии.

## ВЫВОДЫ

1. В антенатальном периоде развития каротидного клубочка человека специфические иммуногистохимические маркёры клеток органа (bIII-тубулин и тирозингидроксилаза) выявляются с возраста 8 недель после оплодотворения. В клубочках эмбриона и плодов (8-30 недель) определяется высокая активность тирозингидроксилазы на протяжении всего срока гестации. В постнатальном периоде развития тирозингидроксилаза присутствует только в единичных клетках.
2. Показано, что иннервация каротидного клубочка формируется уже на 8-й неделе после оплодотворения. Иммуногистохимический анализ с маркёром к bIII-тубулину выявил обильную иннервацию органа уже во внутриутробном периоде.
3. Установлено, что каротидный клубочек плодов по относительным анатомическим размерам больше органа взрослых. Сравнение размера каротидного клубочка с диаметрами внутренних сонных артерий показало, что у плодов он больше диаметра внутренней сонной артерии в 1,1-1,5 раза, у взрослых – меньше в 3-4 раза.
4. Высокая активность тирозингидроксилазы наряду с относительно крупными размерами органа свидетельствуют о том, что во внутриутробном периоде каротидный клубочек наряду с органом Цукеркандля выполняет эндокринные функции, которые состоят в выработке катехоламинов, необходимых для эмбрионального и плодного развития организма.
5. Во внутриутробном периоде высокий синтез тирозингидроксилазы, сменяемый резким его снижением в постнатальном периоде, свидетельствует о том, что функция каротидного клубочка человека изменяется: в пренатальном периоде он выполняет эндокринную, в постнатальном – хеморецепторную функцию.
6. В результате сопоставления светооптических характеристик клеток клубочка на различных сроках фиксации материала было установлено, что при фиксации органа через 24 часа после смерти происходит разрушение клеток I типа. Таким

образом, тёмные, светлые и прогениторные субтипы клеток I типа являются следствием воздействия аутолиза, а не самостоятельными субтипами клеток.

7. На основании сравнения экспериментальных данных с аутопсийным материалом человека удалось установить, что выделяемые на светооптическом уровне пенистые изменения цитоплазмы клеток I типа являются артефактом формалиновой фиксации, а не изменениями, возникающими в процессе развития различных заболеваний.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АТФ – аденозинтрифосфат

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

П.М. – после менструации

П.О. – после оплодотворения

СВДС – синдром внезапной детской смерти

ЭПР – эндоплазматический ретикулум

A2A – ADORA2A – пуриновый рецептор A2A

βIII – βIII-тубулин

ВК-каналы – кальций-зависимые калиевые каналы

CGRP – calcitonin gene-related peptide – кальцитонин-ген-связанный пептид

GFAP - glial fibrillary acidic protein – глиальный фибриллярный кислый белок

H1 и H3-рецепторы – рецепторы гистамина H1 и H2

P2X2 – P2X purinoreceptor 2 – P2X пуриновый рецептор 2

PGP9.5 – ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 – убиквитин карбокси-концевой гидролазы L1

TASK-1 – potassium two pore domain channel subfamily K – двупоровый калиевый канал подсемейства K

ТН – tyrosine hydroxylase – тирозингидроксилаза

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Edwards, C. The carotid body in emphysema and left ventricular hypertrophy / C.Edwards, D.Heath, P.Harris // J. Pathol. – 1971. – Vol. 104, Iss. 1. – P.1-13.
2. Narkiewicz, K. Unilateral Carotid Body Resection in Resistant Hypertension: A Safety and Feasibility Trial / K.Narkiewicz, L.Ratcliffe, E.Hart et al. // JACC Basic to Transl. Sci. – 2016. – Vol. 1, Iss. 5. – P.313-24.
3. Paton, J. The carotid body as a therapeutic target for the treatment of sympathetically mediated diseases / J.Paton, P.Sobotka, M.Fudim et al. // Hypertension. – 2013. – Vol. 61, Iss. 5. – P.5-13.
4. Porzionato, A. The carotid body in Sudden Infant Death Syndrome / A.Porzionato, V.Macchi, C.Stecco et al. // Respir. Physiol. Neurobiol. – 2013. – Vol. 185, Iss. 1. – P.194-201.
5. Kubo, S. Immunohistological investigations of autopsied carotid bodies and their application to diagnosing strangulation / S.Kubo, M.Ogata, O.Kitamura et al. // Int. J. Legal Med. – 1994. – Vol. 106, Iss. 6. – P.281–284.
6. Vos, T. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 / T.Vos, C.Allen, M.Arora et al. // The Lancet. – 2016. – Vol. 388, Iss. 10053. – P.1545-1602.
7. Wang, H. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 / H.Wang, M.Naghavi, C.Allen et al. // The Lancet. – 2016. – Vol. 388, Iss. 10053. – P.1459-1544.
8. Pavai, Z. Morphometric investigation of carotid body in sudden infant death syndrome / Z.Pavai, K.Toro, E.Keller et al. // Rom J Morphol Embryol. – 2005. – Vol. 46, Iss. 2. – P.93-7.
9. Porzionato, A. Peripheral chemoreceptors: Postnatal development and cytochemical findings in sudden infant death syndrome / A.Porzionato, V.Macchi, A.Parenti et al. // Histol. Histopathol. – 2008. – Vol. 23, Iss. 3. – P.351-65.

10. Крючко, Д.С. Младенческая смертность вне лечебных учреждений и пути ее снижения / Д.С.Крючко, И.И. Рюмина, В.В. Чельшева и др. // Вопросы современной педиатрии. – 2018. – Т. 17, № 6. – С.434-40.
11. Moon, R. SIDS and other sleep-related infant deaths: evidence base for 2016 updated recommendations for a safe infant sleeping environment / R.Moon. // Pediatrics. – 2016. – Vol. 138, Iss. 5.
12. De Castro, F. Über die Struktur und Innervation des Glomus caroticum beim Menschen und bei den Säugetieren / F. de Castro. // Z. Anat. Entwicklungsgesch. – 1929. – Vol. 89, Iss. 1–2. – P. 250–265.
13. De Castro, F. Towards the sensory nature of the carotid body: Hering, De Castro and Heymans / F. de Castro. // Front. Neuroanat. – 2009. – Vol. 3. – P.1-11.
14. Bouckaert, J. Carotid sinus reflexes. Influence of central blood-pressure and blood supply on respiratory and vaso-motor centres / J.Bouckaert, C.Heymans. // J. Physiol. – 1933. – Vol. 79, Iss. 1. – P. 49.
15. Heymans, C. Les chémo-récepteurs du sinus carotidien / C.Heymans, J.Bouckaert. // Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. – 1939. – Vol. 41, № 1. – P. 28–55.
16. Biscoe, T. Carotid body: structure and function / T.Biscoe. // Physiol. Rev. – 1971. – Vol. 51, Iss. 3. – P.437-95.
17. Смиттен, Н.А. Симпато-адреналовая система в фило-и онтогенезе позвоночных / Н.А.Смиттен. – М.:Наука, 1972. – 347с.
18. Heath, D. Mast cells in the human carotid body / D.Heath, P.Lowe, P.Smith. // J. Clin. Pathol. – 1987. – Vol. 40, Iss. 1. – P.9-12.19.
19. Heath, D. Post-mortem size and structure of the human carotid body / D.Heath, C.Edwards, P.Harris. // Thorax. – 1970. – Vol. 25, Iss. 2. – P.129-40.
20. Grimley, P. Ultrastructure of the human carotid body. A perspective on the mode of chemoreception / P.Grimley, G.Glenner. // Circulation. – 1968. – Vol. 37, Iss. 4. – P.648–65.
21. De Kock, L. The intra-glomerular tissues of the carotid body / L.de Kock. // Cells Tissues Organs. – 1954. – Vol. 21, Iss. 2. – P.101-16.

22. Verna, A. Ultrastructure of the Carotid Body in the Mammals / A.Verna. // *Int. Rev. Cytol.* – 1979. – Vol. 60. – P.271–330.
23. Biscoe, T. Ultrastructure of the carotid body / T.Biscoe, W.Stehbens. // *J. Cell Biol.* – 1966. – Vol. 30, Iss. 3. – P.563-78.
24. King, A. Synaptic morphology of the carotid body of the domestic fowl / A.King, D.King, R.Hodges et al. // *Cell Tissue Res.* – 1975. – Vol. 162, Iss. 4. – P.459-73.
25. Ross, L. Electron microscopic observations of the carotid body of the cat / L.Ross. // *J. Cell Biol.* – 1959. – Vol. 6, Iss. 2. – P.253-62.
26. Biscoe, T. Electron microscopic and electrophysiological studies on the carotid body following intracranial section of the glossopharyngeal nerve / T.Biscoe, A.Lall, S.Sampson. // *J. Physiol.* – 1970. – Vol. 208, Iss. 1. – P.133-52.
27. Abbott, C. Early ultrastructural changes in the carotid body after degenerative section of the carotid sinus nerve in the cat / C.Abbott, D.De Burgh, A.Howe. // *Cells Tissues Organs.* – 1972. – Vol. 83, Iss. 2. – P.161-85.
28. Eyzaguirre, C. Pharmacology of pH effects on carotid body chemoreceptors in vitro / C.Eyzaguirre, P.Zapata. // *J. Physiol.* – 1968. – Vol. 195, Iss. 3. – P.557-88.
29. Eyzaguirre, C. Effects of some pharmacological agents on chemoreceptor discharges. / C.Eyzaguirre, H.Koyano. // *J. Physiol.* – 1965. Vol. 178, Iss. 3. – P.410-37.
30. Eyzaguirre, C. Effects of temperature and stimulating agents on carotid body cells / C.Eyzaguirre, M.Baron, R.Gallego // *Chemoreception in the carotid body.* Springer. – 1977. – P. 71-8.
31. Mkrtchian, S. Hypoxia regulates microRNA expression in the human carotid body / S.Mkrtchian, K.Lee, J.Kåhlin et al. // *Exp. Cell Res.* – 2017. – Vol. 352, Iss. 2. – P. 412–419.
32. López-Barneo, J. Oxygen Sensing By the Carotid Body: Mechanisms and Role in Adaptation To Hypoxia / J.López-Barneo, P.González-Rodríguez, L.Gao et al. // *Am. J. Physiol. - Cell Physiol.* – 2016. – Vol. 310, Iss.8 – P.629-42.
33. López-Barneo, J. Oxygen sensing in the carotid body / J.López-Barneo, P.Ortega-Sáenz, R.Pardal // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2009. – Vol. 1177, Iss. 1. – P.119-31.

34. López-Barneo, J. Cellular mechanism of oxygen sensing / J.López-Barneo, R.Pardal, P.Ortega-Sáenz. // *Annual review of physiology*. – 2001. – Vol. 63, Iss. 1. – P.259-87.
35. Lazarov, N. Histaminergic and dopaminergic traits in the human carotid body / N.Lazarov, S.Reindl, F.Fischer et al. // *Respir. Physiol. Neurobiol.* – 2009. – Vol. 165, Iss. 2-3. – P.131-6.
36. Fagerlund, M. The Human Carotid Body Expression of Oxygen Sensing and Signaling Genes of Relevance for Anesthesia / M.Fagerlund, J.Kåhlin, A.Ebberyd et al. // *Anesthesiol. J. Am. Soc. Anesthesiol.* – 2010. – Vol. 113, Iss. 6. – P.1270-9.
37. Gauda, E. Developmental expression of tyrosine hydroxylase, D2-dopamine receptor and substance P genes in the carotid body of the rat / E.Gauda, O.Bamford, C.Gerfen. // *Neuroscience*. – 1996. – Vol. 75, Iss. 3. – P.969-77.
38. Izal-Azcárate, A. Immunohistochemical characterization of the rat carotid body / A.Izal-Azcárate, S.Belzunegui, W.San Sebastián et al. // *Respir. Physiol. Neurobiol.* – 2008. – Vol. 161, Iss. 1. – P. 95-9.
39. Kåhlin, J. Presence of nicotinic, purinergic and dopaminergic receptors and the TASK-1 K<sup>+</sup>-channel in the mouse carotid body / J.Kåhlin, L.Eriksson, A.Ebberyd et al. // *Respir. Physiol. Neurobiol.* – 2010. – Vol. 172, Iss. 3. – P.122-8.
40. Kondo, H. Immunocytochemical study on the localization of neuron-specific enolase and S-100 protein in the carotid body of rats / H.Kondo, T.Iwanaga, T.Nakajima. // *Cell Tissue Res.* – 1982. – Vol. 227, Iss. 2. – P.291-5.
41. Kummer, W. Chemoreceptor A-fibres in the human carotid body contain tyrosine hydroxylase and neurofilament immunoreactivity / W.Kummer, J.Habeck. // *Neuroscience*. – 1992. – Vol. 47, Iss. 3. – P.713-25.
42. Biscoe, T. Ultrastructure of the denervated carotid body / T.Biscoe, W.Stehbens. // *Q. J. Exp. Physiol. Cogn. Med. Sci. Transl. Integr.* – 1967. Vol. 52, Iss. 1. – P. 31-6.

43. McDonald, D. The innervation of glomus cells, ganglion cells and blood vessels in the rat carotid body: A quantitative ultrastructural analysis / D.McDonald, R.Mitchell. // *J. Neurocytol.* – 1975. – Vol. 4, Iss. 2. – P.177-230.
44. Hellström, S. Effects of hypoxia on carotid body type I cells and their catecholamines. A biochemical and morphologic study / S.Hellström. // *Chemoreception in the carotid body.* Springer. – 1977. – P.122-9.
45. Hanbauer, I. Molecular biology of chemoreceptor function: induction of tyrosine hydroxylase in the rat carotid body elicited by hypoxia / I.Hanbauer. // *Chemoreception in the carotid body.* Springer. – 1977. – P.114-21.
46. Nishi, K. A pharmacologic study on a possible inhibitory role of dopamine in the cat carotid body chemoreceptor / K.Nishi. // *Chemoreception in the Carotid Body.* Springer. – 1977. – P.145-51.
47. Hervonen, A. Fine structure of the carotid body of the midterm human fetus / A.Hervonen, O.Korkala. // *Z. Anat. Entwicklungsgesch.* – 1972. – Vol. 138, Iss. 2. – P.135-44.
48. Zapata, P. Reinnervation of carotid body and sinus with superior laryngeal nerve fibers / P.Zapata, A.Hess, C.Eyzaguirre. // *J. Neurophysiol.* – 1969. – Vol. 32, Iss. 2. – P. 215-28.
49. Lack, E. Carotid bodies in sudden infant death syndrome: A combined light microscopic, ultrastructural, and biochemical study / E.Lack, A.Perez-Atayde, J.Young. // *Fetal Pediatr. Pathol.* – 1986. – Vol. 6, Iss. 2-3. – P.335-50.
50. Marschke, G. Carotid-body removal in asthma / G.Marschke, G.Beall, W.Stern et al. // *JAMA.* – 1965. – Vol. 191, Iss. 5. – P.397.
51. Naeye, R. Carotid body in the sudden infant death syndrome / R.Naeye, R.Fisher, M.Ryser et al. // *Science.* – 1976. – Vol. 191, Iss. 4227. – P.567-9.
52. Perrin, D. Ultrastructure of carotid bodies in sudden infant death syndrome / D.Perrin, E.Cutz, L.Becker et al. // *Pediatrics.* – 1984. – Vol. 73, Iss. 5. – P.646-51.
53. Sedwitz, J. Unilateral Carotid Body Resection for Asthma: A Report of 350 Patients / J.Sedwitz. // *J. Natl. Med. Assoc.* – 1963. – Vol. 55, Iss. 5. – P.384.

54. Zak, F. The paraganglionic chemoreceptor system: physiology, pathology and clinical medicine / F.Zak, W.Lawson. – New York:Springer-Verlag, 1982. – 583p.
55. Haller, A. von. Elementa physiologiae corporis humani. Tomus quartus. Cerebrum. Nervi. Musculi. / A. von Haller. – Neapoli:Editio Prima Neapolitana, 1776. – 407p.
56. Carmichael, S. The History of the Adrenal Medulla / S.Carmichael. // Reviews in the Neurosciences. – 1989. – Vol. 2, Iss. 2. – P.83-100.
57. Kohn, A. Die Paraganglien / A.Kohn. // Arch. für Mikroskopische Anat. – 1903. – Vol. 62, Iss. 1. – P.263–365.
58. Boyd, J. Observations on the human carotid sinus and its nerve supply / J.Boyd. // Anat. Anz. – 1937. – Vol. 84. – P.386-99.
59. Sheikhabaei, S. Respiratory rhythm irregularity after carotid body denervation in rats / S.Sheikhabaei, A.Gourine, J.Smith. // Respir. Physiol. Neurobiol. – 2017. – Vol. 246. – P.92-7.
60. Heath, D. The human carotid body / D.Heath. // Thorax. – 1983. – Vol. 38, Iss. 8. – P.561-564.
61. Khan, Q. Anatomical variations in human carotid bodies / Q.Khan, D.Heath, P.Smith. // J. Clin. Pathol. – 1988. – Vol. 41, Iss. 11. – P.1196–9.
62. Kumar, P. Peripheral chemoreceptors: function and plasticity of the carotid body / P.Kumar, N.Prabhakar. // Compr. Physiol. – 2011. – Vol. 2, Iss. 1. – P.141-219.
63. Daly, M. Effects of Sino-Aortic Nerve Stimulation on the Bronchi / M.Daly, A.Schweitzer. // Acta Physiol. Scand. 1951. – Vol. 22, Iss. 1. – P.66-72.
64. Nadel, J. Effect of changes in blood gas tensions and carotid sinus pressure on tracheal volume and total lung resistance to airflow / J.Nadel, J.Widdicombe. // J. Physiol. – 1962. – Vol. 163, Iss. 1. – P.13-33.
65. Winter, B. Carotid body resection: Controversy – confusion – conflict / B.Winter. // Ann. Thorac. Surg. – 1973. – Vol. 16, Iss. 6. – P.648-59.
66. Chang, K. Impaired response to hypoxia after bilateral carotid body resection for treatment of bronchial asthma / K.Chang, C.Morrill, H.Chai. // Chest. – 1978. – Vol. 73, Iss. 5. – P.667-9.

67. De Kock, L. Histology of the carotid body / L.de Kock. // Nature. – 1951. – Vol. 167, Iss. 4250. – P.611-2.
68. Gould, R. Fine innervation of the carotid body of the rhesus monkey / R.Gould. // Nature. – 1960. – Vol. 185, Iss. 4707. P.183-4.
69. Григорьева, Т.А. Иннервация кровеносных сосудов / Т.А. Григорьева. – М.:Медгиз, 1954. – 375с.
70. Karnauchow, P. The carotid body: A pathologist's view / P. Karnauchow. // Can. Med. Assoc. J. – 1965. – Vol. 92, Iss. 25. – P.1298-1302.
71. Smith, P. Anatomical variation and quantitative histology of the normal and enlarged carotid body / P.Smith, R.Jago, D.Heath. // J. Pathol. – 1982. – Vol. 137, Iss. 4. – P.287-304.
72. Boyd, J. Absence of the right common carotid artery / J.Boyd. // J. Anat. – 1934. – Vol. 68, Iss. Pt 4. – P. 551.
73. Heath, D. The glomic arteries / D.Heath, C.Edwards. // Cardiovasc. Res. – 1971. – Vol. 5, Iss. 3. – P. 303-12.
74. Jago, R. Structure of the glomic arteries / R.Jago, D.Heath, P.Smith. // J. Pathol. – 1982. – Vol. 138, Iss. 3. – P.205-18.
75. Heath, D. The vasculature of the carotid body / D.Heath, R.Jago, P.Smith. // Cardiovasc. Res. – 1983. – Vol. 17, Iss. 1. – P.33-42.
76. Habeck, J. Arteriovenous anastomoses at the carotid bodies of rats / J.Habeck, A.Honig, C.Huckstorf et al. // Anat. Anz. – 1984. – Vol. 156, Iss. 3. – P. 209-15.
77. Schäfer, D. Arteriovenous anastomoses in the cat carotid body / D.Schäfer, E.Seidl, H.Acker et al. // Zeitschrift für Zellforsch. und Mikroskopische Anat. – 1973. – Vol. 142, Iss. 4. – P.515–524.
78. Serafini-Fracassini, A. Some features of the vascularization of the carotid body in the dog / A.Serafini-Fracassini, D.Volpin. // Cells Tissues Organs. – 1966. – Vol. 63, Iss. 4. – P. 571-9.
79. Seidl, E. On the morphology of the vascular system of the carotid body of cat and rabbit and its relation to the glomus Type I cells / E.Seidl. // Peripher. Arter. Chemorecept. – 1975. – P. 293–299.

80. McDonald, D. The ultrastructure and connections of blood vessels supplying the rat carotid body and carotid sinus / D.McDonald, D.Larue // *J. Neurocytol.* – 1983. – Vol. 12, Iss. 1. – P.117-53.
81. Gerard, M. The innervation of the carotid body / M.Gerard, P.Billingsley. // *Anat. Rec.* – 1923. – Vol. 25, Iss. 6. – P.391-400.
82. Toorop, R. Anatomy of the carotid sinus nerve and surgical implications in carotid sinus syndrome / R.Toorop, M.Scheltinga, F.Moll et al. // *J. Vasc. Surg.* – 2009. – Vol. 50, Iss. 1. – P. 177-82.
83. Савельев, С.В. Атлас мозга человека / С.В.Савельев. – М.:Веди, 2005. – 400с.
84. Sheehan, D. Surgical anatomy of the carotid sinus nerve / D.Sheehan, J.Mulholland, B.Shafiroff. // *Anat. Rec.* – 1941. – Vol. 80, Iss. 4. – P.431-42.
85. Heath, D. Diseases of the human carotid body / D.Heath, P.Smith. – London:Springer-Verlag, 1992. – 205p.
86. Pallot, D. Post-mortem changes in the normal rat carotid body: Possible implications for human histopathology / D.Pallot, M.Seker, A.Abramovici. // *Virchows Arch. A Pathol. Anat. Histopathol.* – 1992. – Vol. 420, Iss. 1. – P.31-5.
87. Seker, M. Postmortem changes in the human carotid body / M.Seker, D.Pallot, J.Habeck et al. // *Arterial Chemoreceptors.* Springer. – 1994. – P. 349-51.
88. Kent, C. The immunolocalisation of ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase (PGP9.5) in developing paraneurons in the rat / C.Kent, H.Rowe. // *Dev. brain Res.* – 1992. – Vol. 68, Iss. 2. – P.241-6.
89. Habeck, J. Serotonin immunoreactivity in the carotid body of adult humans / J.Habeck, D.Pallot, W.Kummer. // *Histol. Histopathol.* – 1994. – Vol. 9, Iss. 2. – P.227-32.
90. Kummer, W. Substance P- and calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivities in the human carotid body studied at light and electron microscopical level / W.Kummer, J.Habeck. // *Brain Res.* – 1991. – Vol. 554, Iss. 1-2. – P.286-92.

91. Lever, J. Observations on the fine structure and histochemistry of the carotid body in the cat and rabbit / J.Lever, P.Lewis, J.Boyd. // *J. Anat.* Wiley-Blackwell. – 1959. – Vol. 93, Pt. 4. – P.478-96.
92. Morgan, M. Nerve endings in rat carotid body / M.Morgan, R.Pack, A.Howe. // *Cell Tissue Res.* – 1975. – Vol. 157, Iss. 2. – P.255-72.
93. Pallot, D. The mammalian carotid body / D.Pallot – Berlin:Springer-Verlag, 1987. – Vol. 102. – 91p.
94. Kobayashi, S. Fine structure of the carotid body of the dog / S.Kobayashi. // *Arch. Histol. Jpn.* – 1968. – Vol. 30, Iss. 1. – P.95-120.
95. Kondo, H. Innervation of the carotid body of the adult rat / H.Kondo. // *Cell Tissue Res.* – 1976. – Vol. 173, Iss. 1. – P.1-15.
96. Nishi, K. The ultrastructure and source of nerve endings in the carotid body / K.Nishi, L.Stensaas.// *Cell Tissue Res.* – 1974. – Vol. 154, Iss. 3. – P.303-19.
97. Biscoe, T. The distribution of cholinesterases in the cat carotid body / T.Biscoe, A.Silver. // *J. Physiol.* – 1966. Vol. 183, Iss. 2. – P. 501-12.
98. Mayer S. Ueber das Ganglion intercaroticum: Inaug. Diss. Laupp, – 1865. – 28p.
99. Luschka, H. Ueber die drüsenartige Natur des sogenannten Ganglion intercaroticum / H.Luschka. // *Arch Anat Physiol.* – 1862. – Vol. 4. P. 405-414.
100. Watzka M. Über die Entwicklung des Paraganglion caroticum der Säugetiere / M.Watzka. // *Z. Anat. Entwicklungsgesch.* – 1937. – Vol. 108, Iss. 1. – P.61-73.
101. Gonzalez, C. Fernando de Castro and the discovery of the arterial chemoreceptors / C.Gonzalez, S.Conde, T.Gallego-Martín. // *Front. Neuroanat. Frontiers.* – 2014. – Vol. 8. – P.1-16.
102. López-Barneo, J. Oxygen-sensing by arterial chemoreceptors: Mechanisms and medical translation / J.López-Barneo, P.Ortega-Sáenz, P.González-Rodríguez et al. // *Mol. Aspects Med.* – 2016. Vol. 47. – P.90-108.
103. Prabhakar, N. Neurotransmitters in the carotid body / N.Prabhakar // *Arterial Chemoreceptors.* Springer. – 1994. – P.57-69.
104. Pallot, D. Studies of normal and wobbler mutant carotid bodies / D.Pallot, T.Biscoe. // *Chemoreception in the Carotid Body.* Springer. – 1977. – P.51-4.

105. Acker, H. Meaning of the Type I Cell for the Chemoreceptive Process – An Electrophysiological Study on Cultured Type I Cells of the Carotid Body / H.Acker, F.Pietruschka. // *Chemoreception in the carotid body*. Springer. – 1977. – P.92-6.
106. Zapata, P. Effects of dopamine on carotid chemo- and baroreceptors in vitro / P.Zapata. // *The Journal of Physiology*. – 1975. – Vol. 244, Iss. 1. – P.235-51.
107. Zapata, P. Blockade of carotid body chemosensory inhibition / P.Zapata, F.Llados. // *Chemoreception in the carotid body*. Springer. – 1977. – P.152-9.
108. Christie, R. The function of the carotid gland 1. The action of extracts of a carotid gland tumor in man / R.Christie. // *Endocrinology*. – 1933. – Vol. 17, Iss. 4. – P. 421-32.
109. Fidone, S. Endogenous acetylcholine levels in cat carotid body and the autoradiographic localization of a high affinity component of choline uptake / S.Fidone, S.Weintraub, W.Stavinoha. // *Chemoreception in the carotid body*. Springer. – 1977. – P.106-13.
110. Eyzaguirre, C. Effects of hypoxia, hypercapnia, and pH on the chemoreceptor activity of the carotid body in vitro / C.Eyzaguirre, H.Koyano. // *J. Physiol*. – 1965. – Vol. 178, Iss. 3. – P.385-409.
111. Schweitzer, A. Action of prostigmine and acetylcholine on respiration / A.Schweitzer, S.Wright. // *Q. J. Exp. Physiol. Cogn. Med. Sci. Transl. Integr.* – 1938. – Vol. 28, Iss. 1. P.33-47.
112. Аничков, С.В. Фармакология химиорецепторов каротидного клубочка / С.В.Аничков, М.Л.Беленький. – Л.:Медгиз, 1962. – 200с.
113. Douglas, W. The effect of a ganglion-blocking drug, hexamethonium, on the response of the cat's carotid body to various stimuli / W.Douglas. // *J. Physiol*. – 1952. – Vol. 118, Iss. 3. – P. 373-83.
114. Eyzaguirre, C. The release of acetylcholine from carotid body tissues. Further study on the effects of acetylcholine and cholinergic blocking agents on the chemosensory discharge / C.Eyzaguirre, P.Zapata. // *J. Physiol*. – 1968. – Vol. 195, Iss. 3. – P.589-607.

115. Kim, D. Acetylcholine release from the carotid body by hypoxia: Evidence for the involvement of autoinhibitory receptors / D.Kim, N.Prabhakar, G.Kumar. // *J. Appl. Physiol.* – 2004. – Vol. 96, Iss. 1. – P.376-83.
116. Kåhlin, J. The human carotid body releases acetylcholine, ATP and cytokines during hypoxia / J.Kåhlin, S.Mkrtchian, A.Ebberyd et al. // *Exp. Physiol.* – 2014. – Vol. 99, Iss. 8. – P.1089-98.
117. Fitzgerald, R. The impact of hypoxia and low glucose on the release of acetylcholine and ATP from the incubated cat carotid body / R.Fitzgerald, M.Shirahata, I.Chang // *Brain Res.* – 2009. – Vol. 1270. – P.39-44.
118. Zapata, P. Is ATP a suitable co-transmitter in carotid body arterial chemoreceptors? / P.Zapata. // *Respir. Physiol. Neurobiol.* – 2007. – Vol. 157, Iss. 1. – P. 106–15.
119. Reyes, E. Effects of combined cholinergic–purinergic block upon cat carotid body chemoreceptors in vitro / E.Reyes, R.Fernandez, C.Larrain et al. // *Respir. Physiol. Neurobiol.* – 2007. – Vol. 156, Iss. 1. – P.17-22.
120. Monti-Bloch, L. Carotid body grafts induced chemosensitivity in muscle nerve fibers of the cat / L.Monti-Bloch, L.Stensaas, C.Eyzaguirre. // *Brain Res.* – 1983. – Vol. 270, Iss. 1. – P.77-92.
121. Verna, A. Loss of chemoreceptive properties of the rabbit carotid body after destruction of the glomus cells / A.Verna, M.Roumy, L.Leitner. // *Brain Res.* – 1975. – Vol. 100, Iss. 1. – P.13-23.
122. Zhong, H. Synapse formation and hypoxic signalling in co-cultures of rat petrosal neurones and carotid body type 1 cells / H.Zhong, M.Zhang, C.Nurse. // *Journal of Physiology.* – 1997. – Vol. 503, Iss. 3. – P.599-612.
123. Biscoe, T. Responses of type I cells dissociated from the rabbit carotid body to hypoxia / T.Biscoe, M.Duchen. // *J. Physiol.* – 1990. – Vol. 428, Iss. 1. – P.39–59.
124. Weir, E. Acute oxygen-sensing mechanisms / E.Weir, J.López-Barneo, K.Buckler et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 353, Iss. 19. – P.2042-55.
125. Rakoczy, R. Acute oxygen sensing by the carotid body: a rattlebag of molecular mechanisms / R.Rakoczy, C.Wyatt. // *J. Physiol.* – 2018. – Vol. 596, Iss. 15. – P.2969-76.

126. Vjotosh, A. Intracellular Mechanisms of Oxygen Sensing / A.Vjotosh. // *Biochem.* – 2020. – Vol. 85, Iss. 1. – P.40–53.
127. Gao, L. Acute oxygen sensing – Role of metabolic specifications in peripheral chemoreceptor cells / L.Gao, P.Ortega-Sáenz, J.López-Barneo. // *Respir. Physiol. Neurobiol.* – 2019. – Vol. 265. – P.100-11.
128. Bishop, T. Genetic basis of oxygen sensing in the carotid body: HIF2 $\alpha$  and an isoform switch in cytochrome c oxidase subunit 4 / T.Bishop, P.Ratcliffe. // *Science Signaling.* – 2020. – Vol. 13, Iss. 615.
129. Ortega-Sáenz, P. Physiology of the Carotid Body: From Molecules to Disease / P.Ortega-Sáenz, J.López-Barneo. // *Annu. Rev. Physiol.* – 2020. – Vol. 82, Iss. 1. – P.127-49.
130. Cole, S. Ultrastructural abnormalities of the carotid body in sudden infant death syndrome / S.Cole, L.Lindenberg, F.Galioto et al. // *Pediatrics.* – 1979. – Vol. 63, Iss. 1. – P.13-7.
131. Hess, A. Histofluorescent and ultrastructural studies on the effects of reserpine and calcium on dense-cored vesicles in glomus cells of the rat carotid body / A.Hess. // *Chemoreception in the Carotid Body.* Springer. – 1977. – P.201-6.
132. Honda, Y. Hypoxic chemosensitivity in asthmatic patients two decades after carotid body resection / Y.Honda, S.Watanabe, I.Hashizume et al. // *J. Appl. Physiol.* – 1979. – Vol. 46, Iss. 4. – P.632-8.
133. Гилевич, И. Морфология каротидной железы при бронхиальной астме в свете показаний к гломэктомии / И.Гилевич, Н.Г.Гориков, Г.М.Никулин. // *Вестник хирургии имени И.И. Грекова.* – 1967. – Т. 99, № 7. – С.61-4.
134. Макарова, Н.П. Сравнительная оценка эффективности консервативного и хирургического лечения тяжёлых форм бронхиальной астмы / Н.П.Макарова, Б.Д.Жислин, З.С.Симонова, Н.М.Суганова. // *Советская медицина.* – 1975. – № 1. – С.48-52.
135. Королева, Н.С. Результаты гломэктомии при бронхиальной астме / Н.С.Королева, С.Р.Добровольский. // *Клиническая хирургия.* – 1980. – № 10. – С.8-11.

136. Карашуров, Е.С. Показания и противопоказания к гломэктомии у больных бронхиальной астмой / Е.С. Карашуров, А.Г. Островский, С.Г. Мартыянов и др. // Хирургия. – 1993. – № 9. – С.36-41.
137. Гудовский, Л.М. Хирургическое лечение бронхиальной астмы / Л.М.Гудовский, С.Е.Карашуров, Е.С.Карашуров и др. // Хирургия. – 2002. – № 7. – С. 14-8.
138. Curran, W. Long term effects of glomectomy. Follow-up of a double-blind study / W.Curran, W.Graham. // Am. Rev. Respir. Dis. – 1971. – Vol. 103, Iss. 4. – P.566-568.
139. Iturriaga, R. Carotid body ablation: a new target to address central autonomic dysfunction / R.Iturriaga. // Curr. Hypertens. Rep. – 2018. – Vol. 20, Iss. 6. – P.53.
140. Niewinski, P. Carotid body resection for sympathetic modulation in systolic heart failure: results from first-in-man study / P.Niewinski, D.Janczak, A.Rucinski et al. // Eur. J. Heart Fail. – 2017. – Vol. 19, Iss. 3. – P.391-400.
141. Conde, S. Carotid body: a metabolic sensor implicated in insulin resistance / S.Conde, J.Sacramento, M.Guarino. // Physiol. Genomics. – 2018. – Vol. 50, Iss. 3. – P.208-14.
142. Porzionato, A. Inflammatory and immunomodulatory mechanisms in the carotid body / A.Porzionato, V.Macchi, R.De Caro et al. // Respir. Physiol. Neurobiol. – 2013. – Vol. 187, Iss. 1. – P.31-40.
143. Zapata, P. Immunosensory signalling by carotid body chemoreceptors / P.Zapata, C.Larraín, P.Reyes et al. // Respir. Physiol. Neurobiol. – 2011. – Vol. 178, Iss. 3. – P.370-4.
144. Милованов, А.П. Внутриутробное развитие человека: руководство для врачей / А.П.Милованов, С.В.Савельев. – М.:МДВ, 2006. – 382с.
145. Савельев, С.В. Стадии эмбрионального развития мозга человека / С.В.Савельев. – М.:Веди, 2002. – 112с.
146. Fidone, S. Axonal transport of labeled material into sensory nerve endings of cat carotid body / S.Fidone, P.Zapata, L.Stensaas. // Brain Res. – 1977. – Vol. 124, Iss. 1. – P.9-28.

147. Korkala, O. Origin and development of the catecholamine-storing cells of the human fetal carotid body / O.Korkala, A.Hervonen. // *Histochemie*. – 1973. – Vol. 37, Iss. 4. – P.287-97.
148. Scraggs, M. Glomic cells and their peptides in the carotid body of the human fetus / M.Scraggs, P.Smith, D.Heath. // *Fetal Pediatr. Pathol.* – 1992. – Vol. 12, Iss. 6. – P.823-34.
149. Pokorski, M. The aging carotid body / M.Pokorski, M.Walski, A.Dymecka et al. // *J Physiol Pharmacol.* – 2004. – Vol. 55, Suppl 3. – P.107-13.
150. Wasicko, M. Resetting and postnatal maturation of oxygen chemosensitivity in rat carotid chemoreceptor cells / M.Wasicko, L.Sterni, O.Bamford et al. // *J. Physiol.* – 1999. – Vol. 514, Iss. 2. – P.493-503.
151. Blanco, C. The response to hypoxia of arterial chemoreceptors in fetal sheep and new-born lambs / C.Blanco, G.Dawes, M.Hanson et al // *J. Physiol.* – 1984. – Vol. 351, Iss. 1. – P.25-37.
152. Carroll, J. Postnatal maturation of carotid chemoreceptor responses to O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> in the cat / J.Carroll, O.Bamford, R.Fitzgerald. // *J. Appl. Physiol.* – 1993. – Vol. 75, Iss. 6. – P.2383-91.
153. Subramanian, A. Organs of Zuckerkandl: their surgical significance and a review of a century of literature / A.Subramanian., V.Maker. // *Am. J. Surg.* – 2006. – Vol. 192, Iss. 2. – P. 224-34.
154. May, R. The relation of nerves to degenerating and regenerating taste buds / R.May. // *J. Exp. Zool.* – 1925. – Vol. 42, Iss. 4. – P.371-410.
155. Barry, M. Response of the gustatory system to peripheral nerve injury / M.Barry, M.Frank. // *Exp. Neurol.* – 1992. – Vol. 115, Iss. 1. – P. 60-4.
156. Fujimoto, S. Fine structure of degeneration and regeneration in denervated rabbit vallate taste buds / S.Fujimoto, R.Murray. // *Anat. Rec.* – 1970. – Vol. 168, Iss. 3. – P.393-413.
157. Яглов, В.В. Биология диффузной эндокринной эпителиальной системы / В.В.Яглов, И.А.Михайлюк, Н.В.Яглова. – Иваново-Франковск:Симфония фортэ, 2013. – 168с.

158. Levitsky, K. Developmental change of T-type Ca<sup>2+</sup> channel expression and its role in rat chromaffin cell responsiveness to acute hypoxia / K.Levitsky, J.López-Barneo. // *J. Physiol.* – 2009. – Vol. 587, Iss. 9. – P.1917-29.
159. Seidler, F. Ontogeny of adrenomedullary responses to hypoxia and hypoglycemia: role of splanchnic innervation / F.Seidler, T.Slotkin. // *Brain Res. Bull.* – 1986. – Vol. 16, Iss. 1. – P.11-4.
160. Gosney, J. Adrenal corticomedullary hyperplasia in hypobaric hypoxia / J.Gosney. // *J. Pathol.* – 1985. – Vol. 146, Iss. 1. – P.59-64.
161. McDonald, D. The neural pathway involved in “efferent inhibition” of chemoreceptors in the cat carotid body / D.McDonald, R.Mitchell. // *J. Comp. Neurol.* – 1981. – Vol. 201, Iss. 3. – P.457-76.
162. Заварзин, А.А. Избранные труды. III. Очерки по эволюционной гистологии нервной системы / А.А.Заварзин. – Л.:Издательство академии наук СССР, 1950. – 419с.
163. Zapata, P. Recovery of chemosensory function of regenerating carotid nerve fibers / P.Zapata, L.Stensaas, C.Eyzaguirre. // *Chemoreception in the Carotid Body.* Springer. – 1977. – P.44-50.
164. Maruhashi, J. Effect of oxygen lack on the single isolated mammalian (rat) nerve fiber. / J.Maruhashi, E.Wright. // *J. Neurophysiol.* – 1967. – Vol. 30, Iss. 3. – P.434-52.
165. Coupland, R. Electron microscopic observations on the structure of the rat adrenal medulla: I. The ultrastructure and organization of chromaffin cells in the normal adrenal medulla / R.Coupland. // *J. Anat.* – 1965. – Vol. 99, Pt 2. – P.231-54.