А.В.Корсак
Ю.Б.Чайковський
О.М.Грабовий
Т.Р.Скибінська

Національний медичний університет
ім. О.О.Богомольця

УДК 616.833-001-06:616.833-006.38.03-003.93-018:615.31:577.105.3

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГЕНЕРАЦІЙНОЇ НЕВРОМИ ПЕРИФЕРІЙНОГО НЕРВА ЗА УМОВ ЙОГО ПОШКОДЖЕННЯ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ОМЕГА-3-ПОЛІНЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ

Робота є фрагментом планової наукової теми „Морфологічні зміни нервової системи за умов дії фізичних та хімічних чинників та можливості корекції" (номер державної реєстрації 01060002345).

Ключові слова: периферійний нерв, регенерація, омега-3-поліненасичені жирні кислоти.

Надійшла: 06.05.2007
Прийнята: 08.06.2007

Резюме. Дослідження проведене на білих щурах, які були розподілені на три групи. Тваринам I та II групи відтворили експериментальну модель травми сідничного нерва. Тваринам III групи була відтворена стандартна модель травми нерва. У післяопераційному періоді щурам першої групи фармакотерапія не проводилась. В другій групі в післяопераційному періоді ентерально вводили щоденно протягом 3 тижнів масляний розчин омега-3-поліненасичених жирних кислот у дозі 0,04 г/кг. Досліджували морфологічну організацію та морфометричну характеристику регенераційної невроми сідничного нерва через 6 тижнів після пошкодження в трьох групах тварин. Проведене дослідження свідчить, що у групи тварин, яким проводили фармакологічну корекцію омега-3-поліненасиченими жирними кислотами, активується процес регенерації сідничного нерва за умов його пошкодження.

Korsak A.V., Chaikovsky Yu.B., Grabovyj O.M., Skibinska T.R. The morphological characteristic of regenerative neuroma of peripheral nerve in conditions of its injury and application of omega-3-polyunsaturated fatty acids.
Summary. Experiment was carried out on white rats, which were divided into 3 groups. Experimental trauma of the sciatic nerve was carried out in 1 end 2 groups. Standart trauma of the sciatic nerve was carried out in 3 groups. Drug correction was not applied in the first group. Omega-3-polyunsaturated fatty acids were applied during 3 weeks in a doze 0,04 g /kg a day in the second group of animals. Drug correction applied in the second group. Morphological characteristic of regenerative neuroma of sciatic nerve in 6 weeks after the injury in 1,2,3 groups of animals was studied. The results obtained testify, that in the group of rats with pharmacological correction by omega-3-polyunsaturated fatty acids process of regeneration was activated.
Key words: peripheral nerve, regenerations, omega-3-polyunsaturated fatty acids.

Вступ

Актуальність вивчення морфологічної характеристики регенераторних можливостей периферійних нервів обумовлена широким колом патологічних станів, що з ними пов'язані. Це травми та ішемія нервових стовбурів, порушення метаболізму (діабетична нейропатія), інтоксикації, які негативно впливають на якість життя даної категорії хворих та часто приводять до інвалідизації. Травматичні пошкодження займають значне місце серед патологічних станів, що пов'язані з периферійними нервами, де провідним методом лікування є відновлення цілісності нервового стовбура за допомогою оперативних втручань (Кардаш К.А., 2003). Але у випадках тяжких та давніх травматичних ушкоджень застосування сучасної мікрохірургічної техніки не завжди дає можливість відновити функції нервового стовбура (Шудло Н.А., 2006). Тому важливою ланкою комплексного лікування хворих з травмами периферійних нервів залишається застосування фармакологічних засобів. Таким чином, є доцільним продовжувати пошук речовин, що ефективно впливали б на регенераторні властивості нервової тканини, враховуючи її морфологічні особливості, у випадках травмування нервових стовбурів з метою покращення результатів лікування даної категорії хворих (Чайковский Ю.Б., 1999).

Фармакологічний вплив на пошкоджений нервовий стовбур з метою відновлення відповідно до його морфології та етапів процесу регенерації повинен бути спрямований на: прискорення ліквідації наслідків дегенерації, стимуляцію росту аксонів, стимуляцію процесу мієлінізації новоутворених аксонів, що включає активізацію синтетичної та проліферативної діяльності клітин Шванна; на сам процес утворення мієлінової оболонки та її диференціювання; запобігати розвитку грубого сполучнотканинного рубця, а та-

кож посттравматичному апоптозу нейронів та клітин Шванна (Челышев Ю.А., Черепнев Г.В., 2001; Геращенко С.Б. та співавт., 2005; Tyrgut M. et al., 2005).

Оскільки омега-3-поліненасичені жирні кислоти мають вплив на стан ліпідного обміну, показники гемостазу, імунної системи та перебіг запального процесу (Фещенко Ю.И. и соавт., 1996) нами було зроблено припущення, що дана речовина може впливати на формування регенераційної невроми ушкодженого периферійного нерва.

Метою даного дослідження було проведення морфологічного та морфометричного аналізу структури регенераційної невроми сідничного нерва щура за умов застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот та без фармакотерапії через 6 тижнів після ушкодження нерва.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на 30 білих щурах-самцях масою 200-250г. Відповідно до завдань дослідження тварини були розподілені на три групи. Тваринам I та II групи відтворили оригінальну експериментальну модель травми нерва. Для цього тваринам I та II групи під тіопенталовим наркозом після мобілізації правий сідничий нерв в ділянці середньої його третини спочатку розчавлювали, в цьому ж місці перев'язували ниткою кетгут №1, а потім перетинали вище місця перев'язки. Центральний та периферійний відрізки фіксували епіневральними швами ниткою поліамід 6/0 на атравматичній голці на відстані 2-3мм. Тваринам I групи у післяопераційному періоді вводили щоденно протягом 3 тижнів кукурудзяну олію у дозі 0,04 г/кг ентерально. Тваринам II групи у післяопераційному періоді вводили щоденно протягом 3 тижнів масляний розчин омега-3-поліненасичених жирних кислот у дозі 0,04 г/кг всередину. Тваринам III групи (контроль) була відтворена стандартна модель травми нерва у вигляді перетину сідничного нерва в ділянці середньої його третини з наступною фіксацією епіневральними швами та введенням щоденно протягом 3 тижнів фізіологічного розчину у дозі 0,04 г/кг ентерально. Досліджували регенераційну неврому сідничного нерва в I, II, III групах тварин через 6 тижнів після пошкодження. Перед забором матеріалу тваринам вводили надлишкову дозу тіопенталу. Для проведення світлооптичних досліджень матеріал фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну. Заморожені зрізи сідничного нерва імпрегнували нітратом срібла за швидким методом імпрегнації азотнокислим сріблом елементів периферійної нервової системи (Коломийцев А.К. и соавт., 1981) з подальшим золотінням та дофарбуванням азуром II та еозином за Максимовим.

Морфометрично на мікропрепаратах імпрегнованих азотнокислим сріблом при умові однакового збільшення визначали ступінь впорядкованості нервових волокон в ділянці регенераційної невроми, середнє значення питомої довжини нервових волокон на одиницю площі регенераційної невроми та середнє значення щільності розподілу нервових волокон у неврому. Ступінь впорядкованості нервових волокон в ділянці регенераційної невроми визначали шляхом визначення середнього кута відхилення аксонів від повздовжньої осі нерва. Для вимірювання використана програма UTHSCSA Image Tool for Windows (version 2.00). Середнє значення питомої довжини нервових волокон на одиницю площі регенераційної невроми визначали методом лінійного інтегрування з використанням окулярної вставки (Гуцол А.А., Кондратьев Б.Ю., 1988), середнє значення щільності розподілу нервових волокон у неврому визначали шляхом підрахунку кількості перехрещень новоутворених нервових волокон з завданою прямою лінією певної довжини, що орієнтована завжди в поперечному до належного ходу волокон напрямку за допомогою окулярної вставки (Стрелин Г.С., Евсюков В.И., 1965).

Результати та їх обговорення

Через 6 тижнів після пошкодження у тварин II експериментальної групи в ділянці травми виявляється регенераційна неврома. У ній визначаються новоутворені нервові волокна, що прямують від центрального відрізка до периферійного. Більшість новоутворених нервових волокон розташовані відносно впорядковано і лише невелика кількість з них розташована косо, поперечно або рекурентно (рис.1).

Рис.1. Відносно впорядковане розташування частини нервових волокон в ділянці регенераційної невроми сідничного нерва щура через 6 тижнів після пошкодження. Оригінальна експериментальна модель травми нерва за умов застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот. Імпрегнація нітратом срібла. ×400.

У тварин I експериментальної групи вивчення стану ділянки травми нерва в цей термін також показало, що нервові волокна розростаються в молодій сполучній тканині і формують разом з нею типову регенераційну неврому. Але на відміну від другої експериментальної групи новоутворені нервові волокна розташовуються невпорядковано. Багато з них не мають повздовжньої орієнтації, або навіть мають поперечний або рекурентний напрям (рис. 2).

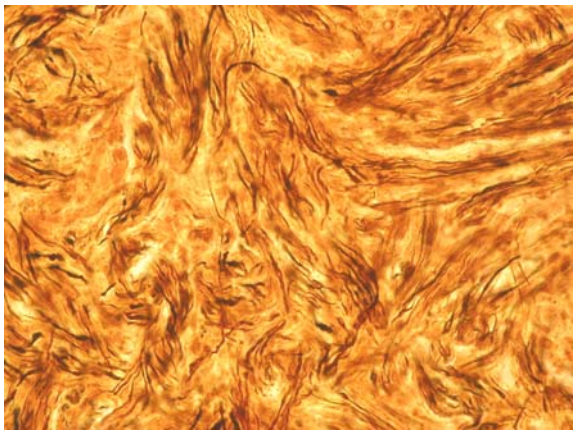

Рис.2. Невпорядковане розташування частини нервових волокон в ділянці регенераційної невроми сідничного нерва щура через 6 тижнів після пошкодження. Оригінальна експериментальна модель травми нерва без застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот. Імпрегнація нітратом срібла. ×400.

У тварин III групи (контроль) морфологічна картина займає проміжне місце між експериментальною групою II і I. В контрольній групі тварин значно більше нервових волокон прямує від центрального до периферійного відрізка на відміну від експериментальної групи I, але менш ніж в експериментальній групі II; розташування нервових волокон в контролі більш впорядковане, ніж в експериментальній групі I, але менше ніж в експериментальній групі II. У регенераційних невромах у тварин I, II, III групи спостерігається скупчення макрофагів, нейтрофілів, молодих фібробластів. Треба відзначити, що у тварин експериментальної групи I, на відміну від контролю та групи II, сполучна тканина невроми більш розвинена та має неоднорідну будову, що проявляється у вигляді скупчення в одних ділянках невроми товстих пучків колагенових волокон та невеликої кількості клітин, а в інших ділянках навпаки міститься більше клітинних елементів (рис.3).

Морфометричний аналіз регенераційної невроми сідничного нерва щура при застосуванні омега-3-поліненасичених жирних кислот через 6 тижнів після пошкодження (експериментальна група II) показали, що середнє значення щільності розподілу волокон у невромі становить (6244±97) мм/мм^3, а це статистично достовірно більше контрольних даних (5048±149) мм/мм^3 ($p<0,05$), та статистично достовірно більше даних експериментальної групи I (3851±100) мм/мм^3, де фармакотерапія була відсутня ($p<0,05$). Середній кут відхилення аксонів від повздовжньої осі нерва у тварин експериментальної групи II складає (28,93±1,94^0), що статистично достовірно відрізняється від експериментальної групи I (38,23±2,39^0) ($p<0,05$), де середній кут відхилення аксонів від повздовжньої осі нерва більший. Середнє значення питомої довжини нервових волокон на одиницю площі регенераційної невроми при застосуванні омега-3-поліненасичених жирних кислот у тварин експериментальної групи II складає (0,13±0,004) мм/мм^2, а це статистично достовірно більше ніж у тварин експериментальної групи I (0,09±0,004) мм/мм^2 відповідно ($p<0,05$), де фармакотерапія була відсутня.

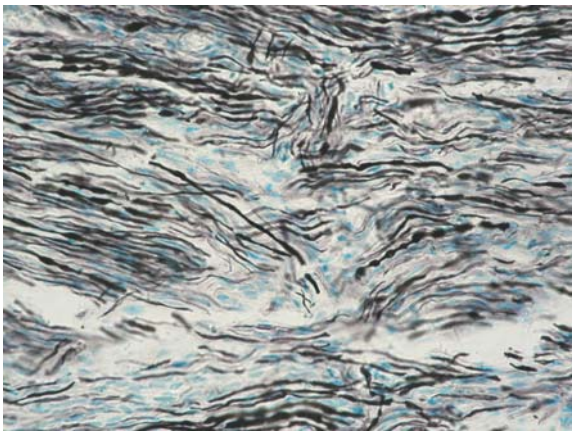

Рис. 3. Неоднорідна будова сполучної тканини регенераційної невроми сідничного нерва щура через 6 тижнів після його пошкодження. Оригінальна експериментальна модель травми нерва без застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот. Імпрегнація нітратом срібла, золотіння, азур II-еозин. ×400.

Таким чином, при застосуванні омега-3-поліненасичених жирних кислот спостерігається збільшення середнього значення щільності розподілу волокон у невромі та збільшення середнього значення питомої довжини нервових волокон на одиницю площі регенераційної невроми, зменшення середнього кута відхилення аксонів від поздовжньої осі нерва, що вказує на покращення процесів регенерації у тварин експериментальної групи II на відміну від експериментальної групи I та контролю.

Висновки

Проведене дослідження свідчить, що застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот при умові пошкодження периферійного нерва активує процеси регенерації нервового стовбура, що проявляється у вигляді збільшення кількості новоутворених нервових волокон, що прямують через регенераційну неврому, збільшення питомої довжини нервових волокон на одиницю площі регенераційної невроми та більш впорядкованого розміщення регенеруючих нервових волокон у невромі.

Перспективи подальших розробок

Перспективи подальших досліджень полягають у поглибленому вивченні впливу омега-3-поліненасичених жирних кислот на процес мієлінізації новоутворених нервових волокон та вплив даного препарату на стан імунної системи за умов пошкодження периферійних нервів.

Літературні джерела

Быстрый метод импрегнации азотнокислым серебром элементов периферической нервной системы, пригодный для целлоидиновых и парафиновых срезов / Коломийцев А.К., Чайковский Ю.Б., Терещенко Т.Л. // Арх. анат., гистол. и эмбр.- 1981.- №8.- С. 93-96.

Гуцол А.А., Кондратьев Б.Ю. Практическая морфометрия органов и тканей.- Томск: Изд-во Том. ун-та, 1988.- 136 с.

Кардаш К.А. Оптимізація надання допомоги хворим з ушкодженнями периферичних нервів // Український медичний альманах.- 2003.- Т.6, №5.- С.72-76.

Омега-3 ПНЖК. Новый лекарственный препарат Теком / Под ред. Ю.И. Фещенко, В.К. Гаврисюка.- Киев, 1996.- 124 с.

Периферійний нерв (нейро-судинно-десмальні взаємовідношення в нормі та патології) / Геращенко С.Б., Дєльцова О.І., Коломійцев А.К., Чайковський Ю.Б.- Тернопіль: Укрмедкнига, 2005.- 342 с.

Стрелин Г.С., Евсюков В.И. О подавлении и восстановлении способности к регенерации периферического нерва после облучения // Медицинская радиология.- 1965.- Т.10, №8.- С.67-73.

Чайковский Ю.Б. Регенерационная неврома // Морфология.- 1999.- №1.-С.55-67.

Челышев Ю.А., Черепнев Г.В. Молекулярные и клеточные аспекты фармакологической стимуляции регенерации нерва // Экспер. и клин. фарм.- 2001.- Т.64.- №3.-С.67-71.

Шудло Н.А. Анализ миелоархитектоники регенерирующего периферического нерва экспериментальных животных в отдаленные сроки после микрохирургического шва и электростимуляции // Анналы хирургии.- 2006.- №3.- С.58-61.

Pinealtctomy exaggerates and melatonin treatment suppresses neuroma formation of transected sciatic nerve in rats: gross morphological, histological and stereological analysis / Tyrgut M., Uyanikgil Y., Baka M. et al. // J. Pineal. Res.- 2005.- Vol.38, №4.- P.284-291.

Корсак А.В., Чайковский Ю.Б., Грабовой А.Н., Скибинская Т.Р. Морфологическая характеристика регенерационной невромы периферического нерва в условиях его повреждения и применения омега-3-полиненасыщенных жирных кислот.

Резюме. Исследование проведено на белых крысах, которые были разделены на три группы. Животным I и II группы воспроизвели экспериментальную модель травмы седалищного нерва. Животным III группы воспроизвели стандартную модель травмы нерва. В послеоперационном периоде крысам первой группы фармакотерапия не проводилась. Крысам второй группы в послеоперационном периоде вводились омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты ежедневно на протяжении 3 недель в дозе 0,04 г/кг. Изучали морфологическую организацию и морфометрическую характеристику регенерационной невромы седалищного нерва через 6 недель после повреждения в трёх группах животных. Проведенное исследование свидетельствует, что в группе животных, которым проводилась фармакологическая коррекция при помощи омега-3-полиненасыщенных жирных кислот, процесс регенерации травмированного периферического нерва активизировался.

Ключевые слова: периферический нерв, регенерация, омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты.