

УДК 616.833–003.93:57.012.4:616.441–008.63

© Колектив авторів, 2013

## МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ УШКОДЖЕНОГО СІДНИЧОГО НЕРВА ЗА УМОВ ГІПОТИРЕОЗУ

**Т. Я. Рудюк, О. В. Храпай, В. Б. Раскалей, О. І. Ковальчук, А. С. Демидчук**

*Кафедра гістології та ембріології (зав. – член-кор. НАМН України, проф. Чайковський Ю. Б.), Національний медичний університет імені О. О. Богомольця. 01601 Україна, м. Київ, бул. Т. Шевченка, 13. E-mail: t\_darmogray@ukr.net*

### PECULIARITIES OF ULTRASTRUCTURAL ORGANISATION OF INJURED SCIATIC NERVE IN HYPOTHYROIDISM

**T. Y. Rudiuk, O. V. Khrapai, V. B. Raskaley, O. I. Kovalchuk, A. S. Demydchuk**

#### SUMMARY

The work is devoted to studying ultrastructural changes in the sciatic nerve in hypothyroid rats in 6 and 12 weeks after a standard section of this nerve. It has been established that the distal segment of the sciatic nerve displays regeneration in six weeks after a standard damage under hypothyroid conditions. This is manifested by new growth of non-myelinated and myelinated fibers. However, we observed some signs of a sudden enhancement of degeneration processes in the form of phagocytic activity in Schwann cells with subsequent formation of a significant quantity of degenerated myelinated fibers utilizing newly formed large-diameter aberrant myelin fibers. In view of regeneration of a damaged nerve made possible through recanalization and a new growth of non-myelinated and myelinated fibers of various diameters, including large diameter fibers, it should be noted that our studies have revealed a significant impediment in degeneration termination and regeneration launching because of the nerve fiber myelination malfunction.

### МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОВРЕЖДЕННОГО СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА В УСЛОВИЯХ ГИПОТИРЕОЗА

**Т. Я. Рудюк, А. В. Храпай, В. Б. Раскалей, А. И. Ковальчук, А. С. Демидчук**

#### РЕЗЮМЕ

Работа посвящена изучению ультраструктурных изменений в седалищном нерве гипотиреоидных крыс через 6 и 12 недель после его стандартной перерезки. Было установлено, что через 6 недель после повреждения нерва у крыс с гипотиреозом в дистальной отрезке нерва процессы дегенерации поврежденных проводников пребывали на заключительных этапах, а процессы регенерации обретали выразительность. У контрольных животных через 6 недель после нанесения стандартной травмы на фоне активных регенерационных процессов выявлена повторная дегенерация новообразованных, но в то же время aberrantных миелиновых волокон. Через 12 недель после травмы у крыс с гипотиреозом новообразованные миелиновые волокна были представлены как типичными, так и атипичными (увеличенными в размерах неполноценными) миелиновыми волокнами, характерными для седалищного нерва гипотиреоидных животных. Элиминация таких волокон осуществляется путем, который отличается от известных путей восстановления поврежденного нерва у животных без гипотиреоза, вследствие снижения активности макрофагов и макрофагальной активности нейроремоцитов при гипотиреозе.

**Ключові слова:** гіпотиреоз, периферичний нерв, ретроградна дегенерація, регенерація, електронна мікроскопія.

За останні десятиріччя частота випадків діагностованого гіпотиреозу значно зросла серед населення України, що багато науковців пов'язують з наслідками аварії на ЧАЕС у 1986 році [1]. Серед проявів гіпотиреозу є ознаки ураження нервової системи, які проявляються невротичними розладами і ініціюють порушення функціонування інших органів і систем [2, 3]. Відомо, що причиною переважної більшості з цих уражень є ушкодження м'якої оболонки нервових волокон [4, 5, 6].

Структурною основою м'якої оболонки є плазмолема нейроремоцита, і згідно рідинно-мозаїчної теорії побудови вона є надзвичайно м'якою і чутливою до впливу зовнішніх і внутрішніх чинників [7, 8]. Формування м'якої оболонки відбувається за співучасті нейрона та нейроремоцита чи олігодендроцита [9, 10]. Своєрідність м'якої оболонки, як біологічної мембрани ґрунтується на низці особливос-

тей. В процесі формування основний білок м'якої оболонки проходить етап метилування, що каталізується специфічним ферментом аргінін-метилтрансферазою. Експресія даного фермента регулюється тиреоїдними гормонами [10]. Ще один важливий чинник формування м'якої оболонки – це м'які зв'язуючий глікопротеїн. М'які зв'язуючий глікопротеїн є представником сімейства імуноглобулінів, гомологічних за властивостями з молекулами клітинної адгезії. Таким чином, нормальний синтез цього глікопротеїну, керований тиреоїдними гормонами, відіграє головну роль у м'якізації через забезпечення міжклітинної взаємодії між олігодендроцитами, нейроремоцитами і поверхнею аксонів нейронів. Отже, брак тиреоїдних гормонів неодмінно призводить до порушень процесу м'якізації нервових волокон. Враховуючи швидке зростання рівня травматизму населення за умов накопичення великої кількості будівель і

тхнічних засобів у місцях мешкання, процес регенерації пошкодженого нерва за умов гіпотиреозу є темою актуальною для вивчення.

Метою роботи було вивчення особливостей процесів де- та регенерації нервового стовбура за умов гіпотиреозу.

#### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експериментальні спостереження були проведені на 15 білих щурах вагою 150–200 г. Всіх тварин, що були використані в роботі, утримували у стандартних умовах віварію (в одному приміщенні, на стандартному брикетованому харчуванні) [11].

Експериментальні тварини були розподілені на 3 групи. Перша група (I) – „псевдооперовані” тварини (5 щурів), показники будови яких були використані для оцінки відновлення травмованих нервів. Тваринам II групи була відтворена експериментальна модель стандартної травми сідничного нерва. III група – тиреоїдектомовані щури, яким через 100 днів після операції [12] була нанесена стандартна травма сідничного нерву. Матеріалом для дослідження були дистальні відрізки (дистальніше післяопераційної невроми) ушкодженого сідничного нерва через 6 і 12 тижнів після відтворення моделі травми периферичного нерва.

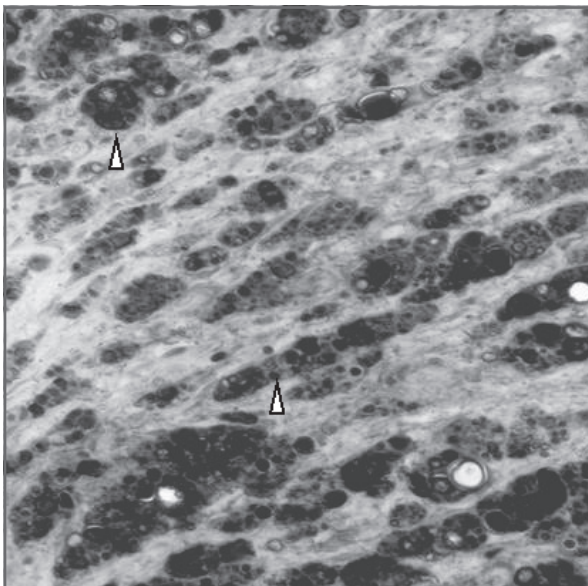
Для електронномікроскопічного дослідження матеріал фіксували в 2,5% розчині глутарового альдегіду на какодилатному буфері з дофіксацією в 1% розчині осмієвої кислоти. Препарати готували за загальноприйнятою методикою, вивчали їх та фотографували в електронному мікроскопі ЕМВ 125 К [13].

Для морфометричного аналізу результатів використовували напівтонкі поперечні та поздовжні зрізи нервів, виготовлені на ультратомі LKB і забарвлені толуїдиновим синім. У даному дослідженні визначали такі величини: кількість та об’єм овоїдів дегенерації нервових волокон в одиниці об’єму нерва та їх площу. Статистична обробка отриманих даних здійснювалася у відповідності з рекомендаціями, що містяться в підручниках з математичної статистики [14].

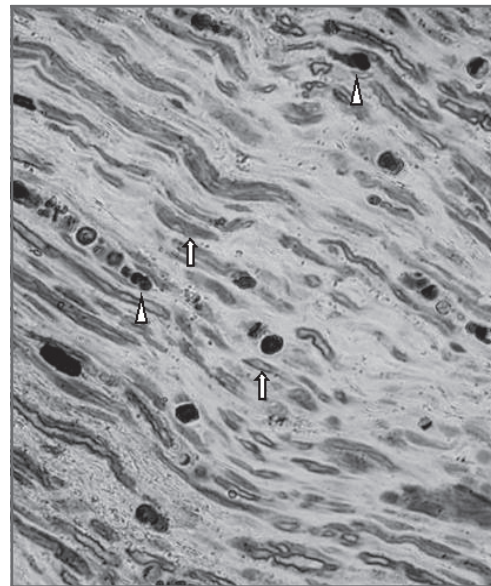
#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Через 6 тижнів після перетину сідничного нерву у гіпотиреоїдних щурів в його дистальному відрізку виявлена невелика кількість мієлінових волокон, які розміщувались поміж прошарків сполучної тканини та овоїдів дегенерації. Останні мали великі розміри, розташовувались кластерно і займали значний об’єм нерва (рис. 1а). Така будова нерва суттєво відрізнялася від того, що було виявлено в сідничному нерві травмованих тварин без гіпотиреозу в цей же термін експерименту, де поміж сформованих мієлінових волокон траплялося незначне число овоїдів дегенерації (рис. 1б).

Якісні показники підкріплювалися морфометричними даними. Кількість мієлінових нервових волокон та частка, яку вони займали в одиниці об’єму нерва через 6 тижнів після операції, була значно меншою, аніж у попередній термін спостережень (табл. 1). Одночасно суттєво збільшився показник об’ємної щільності овоїдів дегенерації до 49,5%, які через 3 тижні експерименту були представлені у незначній кількості (4%). Збільшення числа овоїдів супроводжувалася 5-ти разовим збільшенням їх площі (табл. 2). Овоїди дегенерації були заповнені великою



а



б

Рис. 1. Дистальний відрізок сідничного нерва через 6 тижнів після відтворення стандартної моделі травми периферичного нерва у тиреоїд-ектомованих щурів (а) та щурів без гіпотиреозу (б). Овоїди дегенерації ( $\blacktriangle$ ). Мієлінові волокна ( $\uparrow$ ). Напівтонкі зрізи. Забарвлення толуїдиновим синім. Мікросфото. 3б.: а – об. 40, ок.10. б – об. 20, ок.10

Таблиця 1

**Морфометричні зміни мієлінових волокон у дистальній ділянці сідничого нерва щура в різні терміни після пошкодження**

Групи	Кількісна щільність, (1/мм <sup>2</sup> )	Об'ємна щільність, (%)		Середня площа, (мм <sup>2</sup> )	
		Типові волокна	Атипові волокна	Типові волокна	Атипові волокна
Гіпотиреоз + перетин					
3 тижні	3000 ±63*	35,0 ± 1,3	-	133,0 ±16,3*	-
6 тижнів	1760 ±24*	26,0 ± 1,3	-	45,0 ± 6,4*	-
12 тижнів	3900 ±53*	22,0± 1,1	14,5±0,7	106,0 ± 22*	158,0 ± 32*
Перетин					
3 тижні	1050 ±23*	9,7±0,65	-	78,0 ± 3,3*	-
6 тижнів	2056 ±24*	13,3±0,2	-	81,2 ± 2,7*	-
12 тижнів	6000±133*	32,0± 1,05	-	135,0±15,6*	-

Таблиця 2

**Морфометричні зміни овоїдів дегенерації в дистальній ділянці сідничого нерва щура в різні терміни після пошкодження**

	Гіпотиреоз + перетин			перетин		
	3 тижні	6 тижнів	12 тижнів	3 тижні	6 тижнів	12 тижнів
Об'ємна щільність	7,0+ 0,35	49,5± 33	-	3,9±0,96	3,9±0,87	2,3±0,56
Середня площа	51,5± 29*	257,0±113*	-	135,7±93*	116,0±46,70*	121,0±60,80*

\*- Різниця достовірна (p<0,05) по відношенню до контрольної групи спостережень.

кількістю ліпідних включень та дрібних фрагментів мієлінової оболонки (рис. 1а). Все це свідчило про настання періоду завершальних процесів елімінації старих пошкоджених нервових провідників, які через 3 тижні не мали такої виразності.

У травмованих щурів без гіпотиреозу через 6 тижнів після операції показники кількісної та об'ємної щільності мієлінових волокон значно збільшились, що виникло на фоні збільшення показників їх середніх розмірів, у порівнянні в 3-тижневим строком (табл. 1). Водночас насиченість нерва овоїдами дегенерації лишалась незмінною (табл. 2), хоча через 6 тижнів у тварин без гіпотиреозу процеси дегенерації ушкоджених нервових волокон перебувають зазвичай у завершеному стані. При цьому, середня площа овоїдів дегенерації у щурів з гіпотиреозом через 6 тижнів після пошкодження нерва була меншою, ніж через 3 тижні (табл. 2). Це, ймовірно, сталося внаслідок того, що виникла повторна дегенерація вже новоутворених, ще не дуже великих за діаметром неповноцінних мієлінових волокон, які утворювались внаслідок порушень мієлінізації.

Через 12 тижнів у гіпотиреодних щурів після стандартної травми сідничого нерва в дистальному його відрізьку на світловому рівні виявлені новоутворені мієлінові нервові волокна, які варіювали за діаметром: від дрібних до крупних (рис. 2а). Розподіл волокон був кластерним, нерівномірним,

інтерстиційний простір – розширеним. Переважна більшість крупнокаліберних волокон мала ознаки неповноцінності, а саме: електронна ущільненість та зменшення розмірів осьових циліндрів, повна відсутність осьових циліндрів, набряк, розшарування, втрата структурованості, локальне зникнення мієлінової оболонки (рис. 2б). Така атипова будова мієлінових волокон відмічалася також у неушкодженому сідничому нерві щурів з гіпотиреозом і не спостерігалася у контрольних травмованих щурів в усі терміни спостережень.

Морфометричне дослідження свідчило, що показник кількісної щільності мієлінових волокон цієї ділянки нерва у гіпотиреодних щурів дорівнював 3900±53/мм<sup>2</sup>, що більш ніж удвічі перевищувало цей же показник у групі через 6 тижнів після ушкодження, хоча все ж таки була у 1,5 рази меншою, ніж у групі 12-ти тижневого посттравматичного терміну без гіпотиреозу (табл. 1). При аналізі об'ємної щільності окремо аналізувалися типові та атипові мієлінові волокна. Об'ємна щільність типових мієлінових волокон дещо дорівнювала 22±1,1 %, тоді як атипові волокна займали 14,5±0,7 %. Вцілому мієлінові волокна займали ≈ 36 % об'єму нерву, що значно більше, аніж у щурів без гіпотиреозу в цей же термін спостережень (табл. 1). Це, ймовірно, обумовлено тим, що атипові волокна через розшарування та набряк

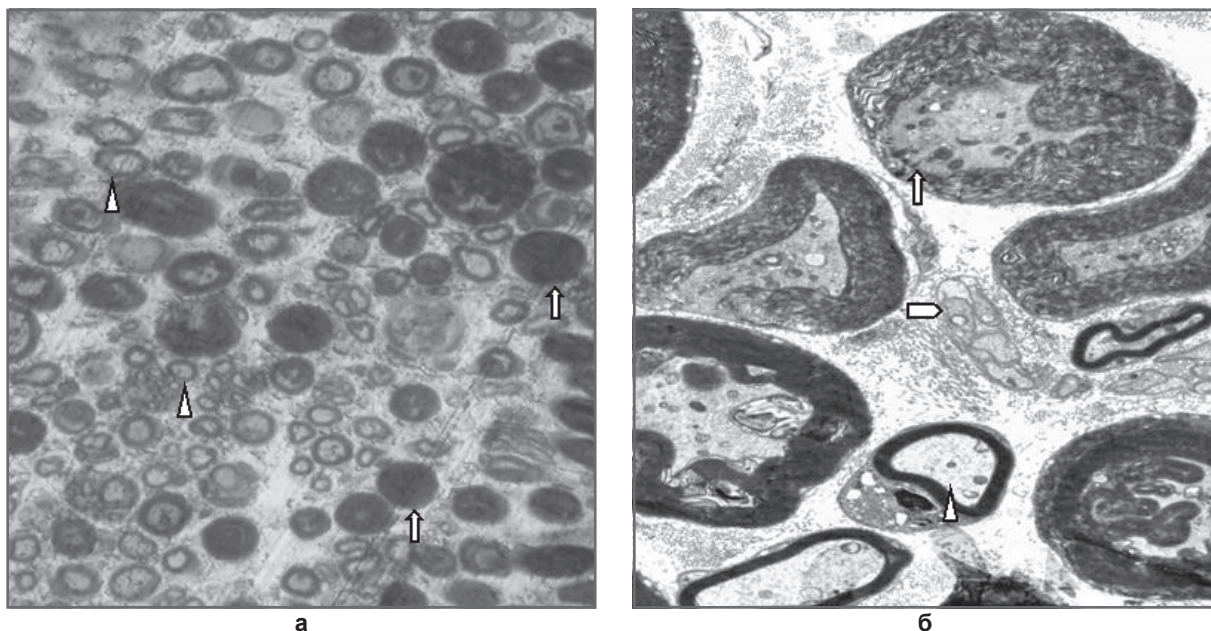


Рис. 2. Дистальний відрізок сідничого нерва через 12 тижнів після відтворення стандартної моделі травми периферичного нерва у тиреоїд-ектомованих щурів Типові (▲) та атипові (↑) мієлінові волокна. Безмієлінові волокна (□): а – напівтонкий зріз. Забарвлення толуїдиновим синім. Мікрофото. 36. – об. 40, ок.10; б – електронно-мікроскопічне фото. 36. 8000

мієлінової оболонки займали площу значно більшу, ніж типові волокна (табл. 1). Особливу увагу привертає повне невиявлення овоїдів дегенерації у сідничому нерві щурів з гіпотиреозом, тоді як у травмованих тварин без гіпотиреозу вони, хоча і в зменшеній кількості, але були представлені у сідничому нерві через 12 тижнів після перетину (табл. 2; рис. 3 А, Б).

ВИСНОВКИ

У тварин, яким була відтворена стандартна травма сідничого нерва за умов гіпотиреозу, в дистальному його відрітку дегенераційні процеси через 3 тижні ще не набували значної виразності, а регенерація тільки розпочиналася. Отже, дегенерація була уповільнена у своєму розвитку і мала слабкі прояви, порівняно з тваринами без гіпотиреозу.

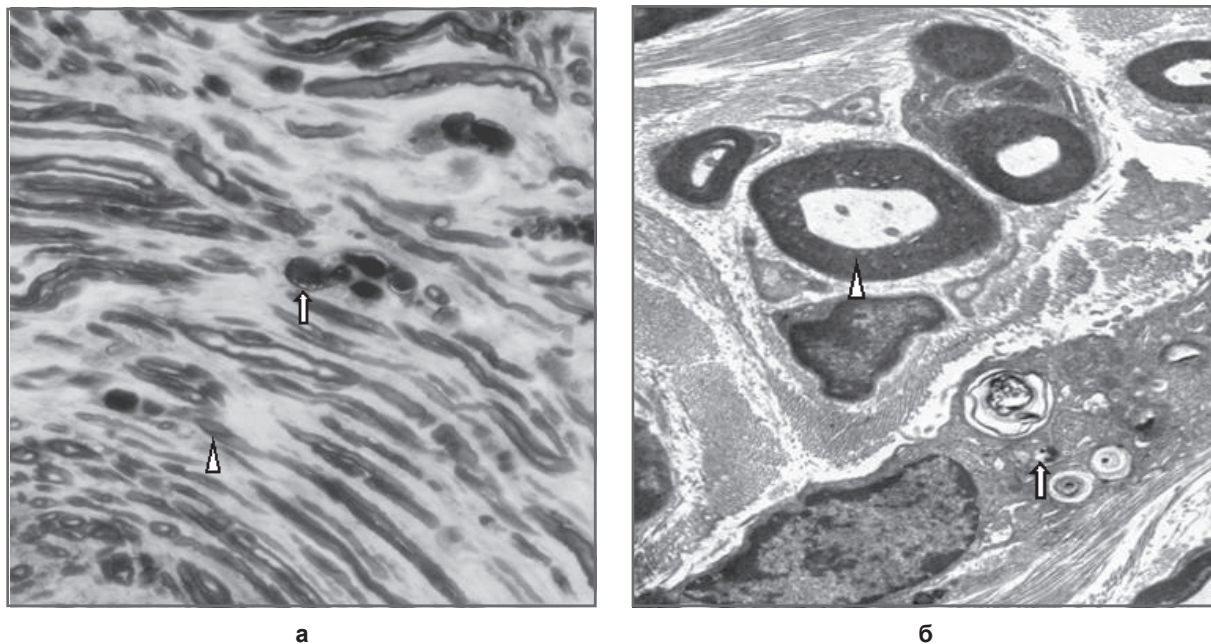


Рис. 3. Дистальний відрізок сідничого нерва через 12 тижнів після відтворення стандартної моделі травми периферичного нерва у контрольних щурів. Мієлінові волокна (▲). Овоїди дегенерації (↑): а – напівтонкий зріз. Забарвлення толуїдиновим синім. Мікрофото. 36. – об. 20, ок.10; б – електронно-мікроскопічне фото. 36. 8000

Через 6 тижнів після пошкодження нерва у тварин з гіпотиреозом в дистальному відрізку нерва процеси дегенерації пошкоджених провідників знаходилися на завершальних етапах, а процеси регенерації набували виразності. У контрольних тварин через 6 тижнів після нанесення стандартної травми на фоні активних регенераційних процесів відмічалася повторна дегенерація новоутворених але аберантних мієлінових волокон.

Через 12 тижнів після травми у тварин з гіпотиреозом новоутворені мієлінові волокна були представлені як типовими мієліновими волокнами, так і збільшеними у розмірах неповноцінними (атиповими) мієліновими волокнами, які характерні для сідничного нерву гіпотиреоїдних тварин. Елімінація таких волокон відбувається шляхом, який відрізнявся від відомих шляхів регенерації пошкодженого нерва, внаслідок зниження активності макрофагів і макрофагальної активності нейролемоцитів при гіпотиреозі.

*Робота є фрагментом держбюджетної теми Інституту проблем патології НМУ імені О. О. Богомольця: "Вплив вродженого та набутого гіпотиреозу на стан центральної та периферійної нервової системи щурів та можливість його фармакологічної корекції", № державної реєстрації 0109U001804.*

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Войчулене Ю. С. Епідеміологічне дослідження захворюваності на хвороби щитоподібної залози в учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС, Автореф. дис. ... канд. мед. наук/Буковинський державний медичний університет. – Чернівці, 2009. – 35 с.
2. Джанашия П. Х. Гипотиреоз и артериальная гипертензия: нерешенные вопросы патогенеза, диагностики и фармакотерапии/П. Х. Джанашия, Г. Б. Селиванова//Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2004. – № 3. – С. 125–132.
3. Кравченко В. І. Динаміка захворюваності на патологію щитоподібної залози/В. І. Кравченко, С. В. Постол//Ендокринологическая служба украины. – К., 2011. – № 3. – С. 35.
4. Facci P. A continuous sheet of glial cell membrane/P. Facci, P. Cavatorta, L. Cristofolini//Biophys J.- 2000- № 78 (3). – P. 1413–1419.
5. Holton T. Vertebrate myelin/T. Holton, T. R. Ioerger, J. A.//D Biol. Crystallogr. –2000. – № 56 (Pt 6). – P. 722–734.
6. Pritzker L. B. Invertebrate glia do not generate myelin sheaths/L. B. Pritzker, S. Joshi, G. Harauz//Biochemistry. – 2000. – № 39 (18). – P.5382–5388.
7. Riccio P. Myelin-reactive CD4+ T cells/P. Riccio, A. Fasano, N. Borenshtein//J. Neurosci. Res.- 2000. – № 15, № 59 (4)- P. 513–521.
8. Hartline D. K. Axonal sheaths in two reportedly myelinated polychaete nervous systems: *Asychis elongata* and *Capitella* sp. I. Bull. Mt. Desert Is./D. K. Hartline and J. H. Kong//Biol. Lab. – 2009. – № 48. – P.86–87.
9. Handschin C. Induction of drug metabolism: the role of nuclear receptors./C. Handschin, U. A. Meyer//Pharmacol. Rev. – 2003. – Vol. 55. – P. 649–673.
10. Чехонин В. П. Основной белок миеллина. Строение, свойства, функции, роль в диагностике демиелинизирующих заболеваний./В. П. Чехонин, О. И. Гурина, Т. Б. Дмитриева, А. В. Семенова, Е. А. Савченко, М. Э. Григорьев//Вопросы медицинской химии.-2000-№ 6.-С. 56–59.
11. Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. – Киев: Вища школа, 1974. – 304 с.
12. Патент на винахід № 27821 Держпатент України. Спосіб моделювання гіпотиреозу у щурів: Патент на винахід № 27821 Україна. Стеченко Л. О., Петренко В. А., Бик П. Л., Кузян В. Р., Куфтирева Т. П. (Україна).- Заявлено 12.11.2007; Опубл. 14.12.2007//Бюль. № 2.-7с.
13. Мінцер О. П., Вороненко Ю. В., Власов В. В. Оброблення клінічних і експериментальних даних у медицині: Навч. посіб. – К.: Вища школа, 2003. – 350 с.
14. Карупу В. Я. Электронная микроскопия. – К.: Вища школа. Головное изд-во, 1984. – 208 с.