

УДК 616-091.8+591.112+616.833.5+616-092.9+612.592  
© Колінко Я.О., 2010

## СТАН ПРОВІДНИКОВОГО АПАРАТУ ТА МІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА СІДНИЧОГО НЕРВА ЩУРА НА СЬОМУ ДОБУ ПІСЛЯ ДІЇ ЗАГАЛЬНОЇ ГЛИБОКОЇ ГІПОТЕРМІЇ

Колінко Я.О.

*Івано-Франківський національний медичний університет*

**Колінко Я.О.** Стан провідникового апарату та мікроциркуляторного русла сідничого нерва щура на сьому добу після дії загальної глибокої гіпотермії // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 91-93.

Дослідження присвячене вивченню змін провідникового апарату і кровоносного русла сідничого нерва на 7-му добу після дії загальної глибокої гіпотермії. Виявлено набряк, розшарування та часткове руйнування мієлінових оболонки, що проявляється збільшенням кількості БНВ та зменшенням числа МНВ, в складі яких відбувається перегрупування із зменшенням частки дрібних та збільшенням частки великих із них. Просвіт складових ланок кровоносного русла нерва при цьому розширюється, стінки стоншуються, хоча окремі їх складові частини мають набряклий вигляд.

**Ключові слова:** сідничий нерв, нервові волокна, загальна глибока гіпотермія, мікроциркуляторне русло.

**Колінко Я.О.** Состояние проводникового аппарата и микроциркуляторного русла седалищного нерва крысы на седьмые сутки после действия общей глубокой гипотермии // Украинский морфологический альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 91-93.

Исследование посвящено изучению изменений проводникового аппарата и кровоносного русла седалищного нерва на 7-ом сутки после действия общей глубокой гипотермии. Обнаружен отек, расщепление и частичное разрушение миелиновых оболочек, которое проявляется увеличением количества БНВ и уменьшением числа МНВ, в составе которых происходит перегруппировка с уменьшением частицы мелкие и увеличением частицы большие из них. Просвет составных ланок кровоносного русла нерва при этом расширяется, стенки утончаются, хотя отдельные их составные части имеют набряклий вид.

**Ключевые слова:** седалищный нерв, нервные волокна, общая глубокая гипотермия, микроциркуляторное русло.

**Kolinko Ya.** The state of explorer vehicle and hemomicrocirculatory bed of sciatic nerve of rat is on seventh days after action of general deep hypothermia // Украинский морфологический альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 91-93.

Research is devoted to the study of changes of explorer vehicle and of the circulatory system river-bed of sciatic nerve on 7th days after the action of general deep hypothermia. Found out an edema, stratification and partial destruction of myelin shells of, which shows up the increase of amount of BNV and diminishing of number of MNV, in composition of which there is regrouping with diminishing particles shallow and by an increase particles large from them. The road clearance of component lanocs of of the circulatory system river-bed of nerve broadens here, walls are thinned, although separate their component parts have a filling out kind.

**Key words:** sciatic nerve, nervous fibres, general deep hypothermia, microcirculatory river-bed.

**Вступ.** Адаптаційні процеси організму при дії різноманітних факторів навколишнього середовища вивчалися і вивчаються багатьма вченими з різних країн світу [6-8]. Добре відомо, що патогенність впливу того чи іншого фактора і віддалені морфологічні зміни, викликані ним, у великій мірі залежать від його інтенсивності і тривалості [1, 3, 5, 6].

Холод помірної інтенсивності впливає позитивно на організм людини, однак недосконалість методів його дозування в умовах стаціонару та надмірна дія в природних умовах можуть привести до глибоких морфологічних змін не тільки в окремих органах і тканинах, а й в організмі в цілому. Незважаючи на поширеність вивчення впливу холодного фактору на людину [3, 4, 9, 10, 11], проблему наслідків дії загальної глибокої гіпотермії зачіпають тільки окремі автори [1, 2]. Тому актуальність дослідження морфофункціонального стану мікроциркуляторного русла і провідникового апарату периферичного нерва в різні терміни після дії загальної глибокої гіпотермії не викликає сумнівів.

**Метою** нашої роботи стало вивчення кількісних та якісних змін провідникового апарату та мікроциркуляторного русла сідничого нерва (СН) щурів на рівні середньої третини стегна на 7 добу після дії загальної глибокої гіпотермії.

**Матеріали та методи.** Дослідження виконане на 18-ти білих безпородних щурах-самцях масою 180-220 г. З них 8 тварин – контрольна, та 10 - дослідна групи. Тварин в період дослідження утримували на стандартному раціоні в умовах вільного доступу до води та їжі згідно "Правил гуманного поводження з експериментальними тваринами" і "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах".

Для проведення експерименту тварин поміщали в холодову камеру до досягнення їх ректальної температури 12-14°C, що відповідає температурним режимам загальної глибокої гіпотермії (ЗГГ) [5]. Після евтаназії тварин шляхом передозування ефірного наркозу кусочки сідничого нерва фіксували в 2% розчині чотириокису осямію, проводили до блоків, виготовляли напівтонкі поперечні і поздовжні зрізи та забарвлювали їх метиленовим синім. Для формування висновків підраховували загальну кількість нервових волокон та розподіл мієлінових нервових волокон за групами: дрібні (до 4,0 мкм), середні (4,1-7,0 мкм) та великі (> 7,0 мкм) на площі 1 мм<sup>2</sup> його поперечного перерізу. Поряд з цим серед великих МНВ виділяли: I – волокна, у яких переважала площа аксона над площею мієліну і II – із зворотнім співвідношенням

цих структур. Крім того, для мієлінових нервових волокон вираховували індекс «g», який відображає співвідношення між площею аксона та площею цілого нервового волокна. Трьом тваринам із кожної групи проводили ін'єкцію кровонесних судин ефірно-хлорформною сумішшю паризької синьої, виготовляли зрізи з подальшим просвітленням препаратів. Додатково виготовляли ультратонкі зрізи, які розглядали під електронним мікроскопом «ПН-125 К». Всі вимірювання проводили на мікрофотографіях формату \*.tif за допомогою програми "Bio Vision 4". Для аналізу і порівняння отриманих цифрових даних використали метод непараметричної статистики.

**Результати та їх обговорення.** В нормі на електронограмах виготовлених із сідничного нерва щура мієлінові оболонки нервових волокон мають темне, насичене забарвлення, а аксони і ендоневрії переважно світлого відтінку. На поперекових зрізах ці волокна визначаються у вигляді кілець неправильної форми з чіткими краями із світлим центром. Осью циліндри сідничного нерва щура на рівні середньої третини стегна містять мітохондрії, нейрофіламенти, мікротрубочки, агранулярну ендоплазматичну сітку, пухирці та мультівезикулярні тільця. Ми зауважили, що із збільшенням діаметру аксонів кількість мікротрубочок у них дещо зменшується, а кількість нейрофіламентів зростає.

Клітини, що оточують аксони в периферичних нервах називаються нейролемоцитами або шванівськими клітинами. Якщо вони оточують декілька аксонів, які розташовуються в інвагінаціях цих клітин, то утворюються безмієлінові нервові волокна. Довкола аксонів краї нейролемоцита змикаються, утворюючи дублюрату плазматичної мембрани – мезаксон, а вздовж таких волокон сусідні нейролемоцити контактують між собою, сплітаючись своїми відростками. В мієлінових нервових волокнах окремий аксон оточується ланцюжком нейролемоцитів, кожен із яких спіральними шарами мезаксона охоплює його, формуючи мієлінову оболонку. В проміжках між сусідніми нейролемоцитами аксони не покриваються мієліновою оболонкою і такі місця називаються вузлами (перетяжками Ранв'є) МНВ. В середній частині кожної шванівської клітини, яка формує мієлін, утворюється потовщення, в ділянці якого розміщується ядро та органели: цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки та апарату Гольджі, вільні та фіксовані рибосоми, мітохондрії, мікротрубочки та мікрофіламенти, поодинокі лізосоми.

На площі 1 мм<sup>2</sup> поперечного перерізу сідничного нерва контрольної групи тварин нараховується 56185,4 ± 2174,81 нервових волокон. Частка безмієлінових (БНВ) складає 78,56 %, а мієлінових (МНВ) нервових волокон — 21,44%, серед яких 22,66% дрібних, 33,5% середніх та 43,8% великих. Серед великих МНВ, частка волокон, у яких переважає площа аксона, складає 12,56 %, а волокон із переважанням мієлінової оболонки — 31,28%. Індекс «g» для цих розмірних груп МНВ складає 0,41 ± 0,02; 0,41 ± 0,02; 0,54 ± 0,01 і 0,34 ± 0,01 відповідно, а його незначні коливання при цьому свідчать про прямопропорційну залежність між діаметром їх аксона та діаметром цілого волокна.

Джерелом формування інтраневрального МЦР є артеріоли, що відходять від епіневральних дрібних артерій ( $d = 46,42 \pm 0,31$  мкм.), які проходять вздовж нерва. Артеріоли проникають в товщу нерва, поділяються на висхідні та низхідні гілки, які анастомозують з такими ж гілками із сусідніх джерел і утворюють повздовжні артеріолярні тракти ( $d = 20-30$  мкм.). Ці тракти розташовуються переважно в міжпучкових зонах і беруть участь в формуванні інтраневральних судинних модулів – ділянок нерва із подібним судинним рисунком. Вони дають початок прекапілярам ( $d = 18,53 \pm 0,57$  мкм.), які поділяються на капіляри. Діаметр капілярів коливається від 3 до 12 мкм. Вони проникають в глибину пучків та анастомозують між собою, утворюючи інтраневральну капілярну сітку, петлі якої частіше мають видовжено-ромбоподібну форму і орієнтовані вздовж осі нерва. Вони досягають в довжину до 250-360 мкм і в ширину 45-73 мкм. Веноулярна частина вказаного МЦР утворюється посткапілярами ( $d = 15-25$  мкм.) та венолами ( $d = 25-40$  мкм.), які виходять з пучків і заливаються з венолами епіневрію на поверхні нервового стовбура. Подальший відтік венозної крові з МЦР пучків здійснюється по дрібних венах ( $d = 40-60$  мкм.), що йдуть в здовж нервового стовбура. Вони, в свою чергу, заливаються між собою, утворюючи більш великі венозні судини ( $d = 60-100$  мкм.), які супроводжують артерії і покидають нервовий стовбур.

На 7 добу постгіпотермічного періоду в переважній більшості нервових волокон сідничного нерва спостерігаються набряк, анізохромія, розпарування та сегментарне руйнування мієлінових оболонок. Ламели мієліну значно віддаляються одна від одної, набувають хвилястого ходу. Насічки Шмідта-Латермана густо пронизують мієлін. Цитоплазма нейролемоцитів містить значну кількість мікропіноцитозних пухирців, вакуолей, лізосом, продуктів розпаду мієліну. Їх ядра деформуються, хроматин збирається у грудочки різної величини, розміщується маргінально, місцями руйнується нуклеолема. Мітохондрії набрякають, просвітлюється їх матрикс, деформуються і частково руйнуються кристи. Відбувається фрагментація гранулярної ендоплазматичної сітки та апарату Гольджі, зменшується кількість вільних і фіксованих рибосом. Візуалізується значна кількість дрібних та середніх волокон, що набувають зірчастої та полігональної форми.

В аксоплазмі дрібних МНВ та в БНВ зменшується кількість мікротрубочок, а в великих та середніх МНВ вони оточуються нечіткою контурованою речовиною. Аксоплазматичні мітохондрії набрякають, але зберігають чітку структуру крист.

Кількість НВ на площі 1мм<sup>2</sup> поперечника нерва зменшується у порівнянні з контрольним показником на 24% ( $P < 0,01$ ). За рахунок сегментарної демієлінізації МНВ на  $4,07 \pm 0,07\%$  зростає число БНВ. Частка великих МНВ досягає 70,35%, з яких більше як 63,07% складають волокна з товстою МО ( $P < 0,01$ ). Індекс «g» у МНВ становить відповідно  $0,31 \pm 0,01$ ;  $0,4 \pm 0,01$ ;  $0,55 \pm 0,004$  та  $0,39 \pm 0,01$ .

При заповненні кровонесних судин сідничного нерва паризькою синьою у цей термін дослі-

дження за рахунок розширення просвіту всіх його ланок спостерігається згущення судинного рисунку. Зокрема, виявляються розширені звивисті артерії, які супроводжуються венами з деформованим та аневризматично розширеним просвітом. На поперечних, напівтонких зрізах зафарбованих метиленовим синім, у стоншених стінках артерій усіх калібрів та артеріол нечітко диференціюються їх оболонки. Ендотеліоцити, ядра і цитоплазма яких все ще набряклі, знаходяться на згладженій внутрішній еластичній мембрані. У деяких артеріях та артеріолах є ділянки відшарування ендотеліальних клітин з оголенням внутрішньої еластичної мембрани, яка місцями має фрагментований вигляд. Гладкі м'язи середньої оболонки дезорієнтовані, стоншені. Адвентиційна оболонка без чіткої візуалізації. У тонкостінних венах та венулах з деформованим просвітом слабо контуруються структурні елементи стінки. В підендотеліальному парі судин виявляються фібрилярні структури. Крім того, велика кількість таких волокнистих утворень розташовується біля судин переважно артеріальної ланки. Із ростом калібру ланок мікроциркуляторного русла кількість фібрилярних структур довкола них зростає. Також вони часто зустрічаються в усіх сполучнотканинних прошарках нервового стовбуру у вигляді поодиноких вкраплень темно-синього кольору та довільної форми.

За даними морфометрії, просвіт епіневральних та внутрішньостовбурових артерій крупного калібру у порівнянні з контролем зростає на 17 % ( $P < 0,01$ ). Товщина стінки цих судин також є більшою в 1,25 рази. Просвіт венул і вен усіх порядків також збільшується і через сім діб після дії ЗГТ перевищує контрольні показники на 30 – 50%. В даному експериментальному періоді зустрічаються вени, середній діаметр просвіту яких перевищує 110 мкм, що не спостерігається в контрольній групі тварин.

Виразені зміни у всіх ланках ГМЦР виявляються і при ультраструктурному дослідженні. Виявлено гомогенізацію і вакуолізацію цитоплазми ендотеліоцитів, яка містить велику кількість мікропіноцитозних пухирців і вакуолей, деформацію їх ядер, ознаки локального руйнування нуклеолеми. Мітохондрії набряклі, з просвітленим матриксом, порушенням орієнтації та руйнуванням крист.

Відмічається фрагментація мембранних структур гранулярної ендоплазматичної сітки, апарату Гольджі. Люменальна поверхня плазмолемі ендотеліоцитів утворює численні вакуолізовані випини в просвіт судин, місцями їх цілісність порушується і спостерігаються явища мікроклазматозу. Базальна мембрана потовщується, розшаровується. Відростки перицитів набрякають, із-за чого їх цитоплазма набуває низької електронної щільності. Все це, разом із втратою щільності контактів між ендотеліоцитами, сприяє виходу за межі судин формених елементів крові.

При морфометричному дослідженні прекапілярів та капілярів, встановлено аналогічне розширення їх просвіту на 18 – 20 % та стоншення стінки цих судин на 13 – 30%. Показник середнього діаметру просвіту посткапілярів зростає в 1,49 рази. Спостерігається також потовщення їх стінки

більш, ніж на 20 %. В середньому просвіт капілярів досягає значення  $7,49 \pm 0,03$  мкм, що на 19,53 % перевищує контрольне значення. Електронно-мікроскопічні зміни прекапілярів, капілярів та посткапілярів носять аналогічний характер із змінами в більш крупних судинах.

У навколосудинних сполучнотканинних прошарках збільшується кількість колагенових волокон, активованих фібробластів, в цитоплазмі яких виявляються чітко контуровані мітохондрії, елементи апарату Гольджі, каналці і цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки, на поверхні яких знаходиться велика кількість рибосом.

**Висновок.** На 7-му добу після дії загальної глибокої гіпотермії у досліджуваній частині сідничного нерва відбуваються якісні і кількісні зміни нервових волокон, які пов'язуються з їх набряком, розширенням та частковим руйнуванням мієлінових оболонок. Спостерігається розширення артеріальної та венозної ланок кровоносного русла нерва, набряк клітинних і міжклітинних структур стінки цих судин.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Даченко Г. В. Морфо-функціональні зміни в організмі в ответ на общую и локальную гипотермию (обзор литературы) / Г. В. Даченко, Е. Н. Шаповал // Вісник морфології. - 2001. - №2. - С. 305-307.
2. Загальна глибока гіпотермія / [Шутка Б. В., Саган О. В., Дубчак У. М. та ін.]; за ред. Б. В. Шутки. — Івано-Франківськ, 2006. — 298 с.
3. Изменения структуры тазового сплетения при холодном стрессе. / Лапина В.И., Бочарова В.Н, Уткана Л.Н., [та ін.] // Морфология. — 1998. — Т. 114, № 5. — С. 39—43.
4. Левицький В. А. Гісто-ультраструктура лицевого нерва в нормі і в умовах експериментальної нейропатії / В. А. Левицький, Н. І. Шовкова // Вісник морфології. — 2009. — № 1. — С. 38—43.
5. Пат. 65225А Україна, МПК А 61 В 5/01. Спосіб моделювання загальної глибокої гіпотермії в експерименті / Шутка Б. В., Попадинець О. Г., Жураківська О. Я.; заявник і патентовласник Івано-Франківський держ. мед. ун-т. — № 2003065678; заявл. 19.06.03; опубл. 15.03.04, Бюл. № 3.
6. Baylor K. Peripheral nerve at extreme low temperatures: pharmacologic modulation of temperature effects / K. Baylor, M. M. Stecker // Cryobiology. — 2009. — V. 59, №1. — P. 12—1
7. Cooling produces minimal neuropathology in neocortex and hippocampus / X. F. Yang, B. R Kennedy, S. G. Lomber, [et al] // Neurobiol Dis.- 2006.- №3. - P. 637-643.
8. Effects of post-injury hypothermia and nerve growth factor infusion on antioxidant enzyme activity in the rat: implications for clinical therapies / S. T. DeKosky, E. E. Abrahamson, K. M. Taffe, [et al] // J Neurochem. — 2004. — № 4. — P. 998—1004.
9. Heier T, Impact of hypothermia on the response to neuromuscular blocking drugs / T. Heier, J. E. Caldwell // Anesthesiology. - 2006. - V. 104, №5. — P. 1070—1080.
10. The effect of cerebral hypothermia on white and grey matter injury induced by severe hypoxia in preterm fetal sheep / L. Bennet, V. Roelfsema, S. George, [et al] // J. Physiol. — 2007. — № 578 (Pt 2).— P. 491—506.
11. The effect of cerebral hypothermia on white and grey matter injury induced by severe hypoxia in preterm fetal sheep / L. Bennet, V. Roelfsema, S. George, [et al] // J. Physiol. — 2007. — № 578 (Pt 2).— P. 491—506.